

# 成人外来患者における二枚貝喫食歴と、急性胃腸炎及びノロウイルスとの関連性

著者	小林 大輝
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第18288号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00125931">http://hdl.handle.net/10097/00125931</a>

博士論文

成人外来患者における二枚貝喫食歴と、  
急性胃腸炎及びノロウイルスとの関連性

東北大学大学院医学系研究科医科学専攻

微生物学分野

小林 大輝

## 目次

1	要約 .....
2	研究背景 .....
2-1	ノロウイルスのウイルス学的知見 .....
2-2	ノロウイルス性胃腸炎の重要性 .....
2-3	日本における食中毒の報告 .....
2-4	食中毒によるノロウイルスのアウトブレイク .....
2-5	ノロウイルスの糞口感染 .....
2-6	ノロウイルスによる食物汚染 .....
2-7	二枚貝とノロウイルス .....
3	研究目的 .....
4	研究方法 .....
4-1	研究デザイン .....
4-2	研究倫理審査 .....
4-3	研究対象 .....
4-4	質問票 .....
4-5	臨床情報の収集 .....

4-6	便検体 .....
4-7	サンプルサイズ .....
4-8	統計解析 .....
5	研究結果 .....
5-1	下痢症症例と非下痢症対照患者の比較 .....
5-2	ノロウイルス陽性下痢症症例とノロウイルス陰性下痢症症例の比較 .....
5-3	ノロウイルス陽性に対する臨床情報の比較及び多変量解析結果 .....
5-4	ノロウイルス陽性下痢症症例と、マッチングした非下痢症対照患者の比較 .....
5-5	ノロウイルスの遺伝子型 .....
6	考察 .....
6-1	結果のまとめ .....
6-2	他の研究・調査との比較 .....
6-3	日本における食中毒の報告の偏り .....
6-4	二枚貝によるノロウイルス感染の対策 .....
6-5	無症候性ノロウイルス感染による感染拡大 .....
6-6	本研究の限界 .....
7	結論 .....



8	文献 .....
9	図 .....
10	表 .....

## 1 要約

感染性胃腸炎流行時期に、聖路加国際病院で成人外来患者を対象に、二枚貝喫食歴とノロウイルス、下痢症の関連性を調査する目的で、マッチングを用いた前向き症例対照研究を行った。下痢症状を有し独歩で来院した外来患者を下痢症症例とし、他の理由で外来を独歩で受診した患者を非下痢症対照患者とした。喫食歴と臨床情報を得るために質問票を使用し、すべての下痢症症例と同意を得られた一部の非下痢症対照患者より便検体を得た。便検体中のノロウイルスは、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応を用いて検出した。その結果、合計 207 名の患者が登録され、69 名が下痢症症例であり、138 名が非下痢症対照患者であった。そのうち 60 名 (29.0%) が二枚貝を喫食したと回答し、主にホタテ (n=17)、牡蠣 (n=17) 及びアカ貝 (n=9) の喫食が多く認められた。また、下痢症症例の 35.0% (24/69) にノロウイルスが検出された。そのうち 41.7% (10/24) は二枚貝を喫食したと答え、25.0% (6/24) には二枚貝の生食歴を認めた。ロジスティック回帰分析の結果、ノロウイルス陽性下痢症症例はノロウイルス陰性下痢症症例に比べ、有意に二枚貝の生食歴の割合が高く [25.0% 対 6.7%、オッズ比: 4.7 (95%信頼区間(confidence interval: CI): 1.1–20.7)]、マッチングした非下痢症対照患者と比べても同割合が高かった [25.0% 対 6.3%、オッズ比: 5.0 (95%CI: 1.1–22.2)]。ノロウイルス関連下痢症に対する二枚貝の生食歴の寄与危険割合は、20.0%であった。一方で下痢症症例と非下痢症対照患者間には、二枚貝の喫食歴を報告した患者の割合に統計学的に有意な差は認めな

った[31.9% 対 27.5%、オッズ比：1.2 (95%CI：0.6－2.4)]。これらの結果より、成人下痢症患者においては、二枚貝の生食歴はノロウイルス陽性に関連していると考えられ、二枚貝のノロウイルス汚染改善が本邦におけるノロウイルス関連下痢症の発症率を下げる可能性があると考えられた。

## 2 研究背景

### 2-1 ノロウイルスのウイルス学的知見

ノロウイルス (Norovirus) は、プラス鎖の一本鎖リボ核酸 (Ribonucleic acid: RNA) を持ち、ゲノムの全長が約 7,500 塩基の遺伝子を持つウイルスである<sup>1</sup>。ノロウイルスは、カリシウイルス科 (*Caliciviridae*) に属し、ノロウイルス属はカプシド遺伝子配列の類似性をもとに 5 つの遺伝子グループに分かれている。そのうち G I、G II 及び G IV がヒトに対して感染し<sup>2</sup>、一方で、G III や G V は、ウシやネズミから分離され、ヒトに感染したという報告はない。また、G II の一部はブタからも検出されることがある<sup>2</sup>。更に、遺伝子グループよりも下位にあたる遺伝子型により少なくとも G I は 9 遺伝子型 (G I.1 から G I.9) に、G II は 22 遺伝子型 (G II.1 から G II.22) に分類される<sup>3</sup>。ノロウイルスは 3 つの蛋白質コード領域：オープンリーディングフレーム (open reading frame: ORF) が存在しており、ORF1 が非構造蛋白質、ORF2 が構造蛋白質 1、ORF3 が構造蛋白質 2 をそれぞれコードしている<sup>4</sup>。これらのうち、ORF1 と ORF2 を用いた遺伝子型の決定が一般的に行われる<sup>5</sup>。更にノロウイルスは、ORF1 の一部と ORF2 の一部 (junction 部分) で遺伝子組み換えが起こる頻度が高いことが知られている。また、カプシドのタンパクをコードしている ORF 2、特にカプシドの表面にあるエピトープ部分の変化や、組み合わせにより宿主側との結合性や、ウイルス自体の病原性に多様性が生じる<sup>6</sup>。これらの遺伝子グループを臨床症状で見分けることはしばしば困難とされる<sup>6</sup>。しかしながら、近年の報告では G II (特に G

II.4)、GI、GIVの順に急性腸炎の原因となることが多く、中でもGII.4ウイルスは、エピトープの変異が他の遺伝子型に比べ頻繁に起こる可能性あり<sup>7,8</sup>、アウトブレイクを起こしやすく、臨床的には入院率や死亡率が他の遺伝子型よりも高いとされる<sup>9,10</sup>。GII.4の中でも、初めてオーストラリアのシドニーで検出されたため命名されたGII.4 Sydneyは、2012年には米国で最も頻度の高いノロウイルスのウイルス株となった<sup>11</sup>。更にGII.4 Sydneyは、本邦を含むアジア地域、欧州でも世界的に広く蔓延するようになった<sup>12,13</sup>。

ノロウイルスはヒトの細胞における組織培養方法が未だ十分に確立されていない。2007年にStraubらは、ヒト小腸上皮細胞のオルガノイドモデルを用いたヒトノロウイルスの培養に成功したと発表した<sup>14</sup>。更に同著者らは2011年に、ヒト結腸上皮を用いることでもウイルス培養に成功した<sup>15</sup>。しかしながら別の研究グループによるその後の研究では、これらの細胞を用いたヒトノロウイルスの培養は再現できなかった<sup>16</sup>。その後、B細胞由来の細胞を用いることで遺伝子型GII.4のヒトノロウイルスの培養に成功したとの報告がある<sup>17</sup>。その報告によると、ノロウイルスの標的細胞はB細胞であり、ヒト組織血液型抗原を発現している腸内細菌がその増殖に必要であることが示唆された。更に近年の研究では、ヒト幹細胞由来の形質転換していない単層ヒト小腸エンテロイドを用いたノロウイルスの培養に成功した<sup>18</sup>。B細胞を用いた研究では遺伝子型GII.4のヒトノロウイルスのみ培養可能であったが、本方法を用いた場合、胆汁を培養過程で使用するにより、他の遺伝子型の

ノロウイルスでも培養に成功した。しかしながらこれらの培養方法は未だ実験段階であり、汎用するには専門的で費用も多くかかるため、代わりにマウスノロウイルスやネコカリシウイルスによる代理研究が多く行われてきた。それらの結果によるとノロウイルスは、4℃から 60℃程度で存在可能であり、pH2 から pH10 までの酸性からアルカリ性の状態でも安定しているといわれる<sup>19</sup>。4℃の冷蔵下では2 か月間安定した感染力を有し、室温下でも2 週間は感染性が継続するとの報告がある<sup>20</sup>。また物理化学抵抗性も強く、ウイルスを不活化するためには70%程度のアルコールでは30 分間の消毒が必要とされる<sup>21</sup>。このようにノロウイルスはウイルス学的に安定しており、自然環境下で不活化しにくく感染性を長期間有するウイルスと言える。それにより感染する機会が増え、大規模なアウトブレイクになると考えられている。実際、本邦では2017 年に立川市で刻み海苔を原因とするノロウイルス集団感染が報告されており、1,000 名以上が罹患した<sup>22</sup>。

## 2-2 ノロウイルス性胃腸炎の重要性

ノロウイルス性胃腸炎は世界で最もよく見られる急性胃腸炎の病原体の一つである<sup>23</sup>。米国疾病予防管理センター(Centers for Disease Control and Prevention: CDC)によると、世界では年間約7 億人がノロウイルス性胃腸炎を発症し、約20 万人が死亡しているとされる<sup>24, 25-27</sup>。ノロウイルスは、低・中所得国内のみならず、下水道普及率が高く衛生状況がよい高所得国内においても、急性胃腸炎の原因として最

も頻度が高い病原体である<sup>25</sup>。ノロウイルス感染は、主に糞口経路によりヒトからヒトへと伝播することで成立すると考えられている<sup>23,28</sup>。特に糞口経路による家庭内、学校や介護施設内でのアウトブレイクは、数多く報告されている<sup>29-31</sup>。しかしながら食中毒もノロウイルス感染には重要な経路であり<sup>32,33</sup>、米国ではノロウイルスアウトブレイクの26%が、欧州では21%が食中毒によるものと報告されている<sup>34,35</sup>。食中毒の病原体としてもノロウイルスは世界で最も頻度の高いウイルスであり、2010年には約1億2千万人がノロウイルスによる食中毒を起こしていると推定された<sup>36</sup>。本邦においては2017年の厚生労働省からの報告によると、食中毒の50%以上がノロウイルスによるものとされている<sup>37</sup>。他の病原体と比べノロウイルスによる食中毒アウトブレイクは、単に食中毒の原因として多いのみならず、強い感染性を持つため多くの人々に影響を与える。本邦における最も頻度の高い食中毒の原因の一つであるカンピロバクターでは、食中毒1回あたり平均10名の患者が発症するが、ノロウイルスでは32名であると報告されている<sup>37</sup>。それゆえノロウイルスによる食中毒アウトブレイクは、医療制度や食品産業に経済的にも強い影響を与える傾向にある<sup>38,39</sup>。

## 2-3 日本における食中毒の報告

食品衛生法第58条によると、[食品、添加物、器具若しくは容器包装に起因して中毒した患者若しくはその疑いのある者を診断し、又はその死体を検案した医師

は、直ちに最寄の保健所長にその旨を届け出なければならない]とされ、本邦における食中毒は医師から保健所へ報告される。その報告に従い保健所は調査を行い、結果は都道府県知事や厚生労働大臣を経て集計される。その報告結果から、厚生労働省は年間の食中毒統計・調査結果を公表している<sup>40</sup>。厚生労働省では食中毒の原因として、細菌、ウイルス、動物性自然毒、植物性自然毒、化学物質、寄生虫及びその他の7つ分類しており、2016年の食中毒発生事例では、1,142件の報告のうち、ウイルスによるものが356件(31.1%)、細菌によるものが481件(42.1%)であった。原因病原体としては、上述のようにノロウイルスが多くを占める。同年の報告によると、原因食品としては1,022件中485件(47.5%)が不明とされているも、判明しているものの中では、二枚貝喫食が原因である可能性が示唆されたものは21件(1.8%)であり、二枚貝の生食は15件(1.3%)であった。この傾向は10年前も大きく変化なく、2006年の食中毒発生事例では、1,507件の報告中、ウイルスによるものが33.6%、細菌によるものが46.9%、二枚貝摂取関連は1.0%、二枚貝生食関連は0.5%であった。このように、本邦における食中毒は、ノロウイルスをはじめとするウイルス性食中毒が依然多い状況である。また本邦における原因食品は、原因不明が半数弱であるため食中毒報告全体に占める割合としては少ないものの、以前より二枚貝、特に牡蠣による報告が散見される。これらの報告から、牡蠣がノロウイルス性胃腸炎のリスクであるとの考え方が本邦で強く認識されているのではないかという考えに至った。



## 2-4 食中毒によるノロウイルスアウトブレイク

ノロウイルスのアウトブレイクは、1968年に米国オハイオ州ノーウォークの小学校にて初めて報告された<sup>41</sup>。その後、本邦を含む世界各国で、食中毒によるノロウイルスアウトブレイクの報告がある<sup>42-44</sup>。本邦における近年の大規模食中毒によるノロウイルスのアウトブレイクは、先に述べた2017年の立川市のアウトブレイクや2014年浜松市で起こったものがある<sup>22,45</sup>。いずれも学校給食による食中毒で、浜松市では食パンを介し、合計1,271名の患者がノロウイルス性胃腸炎に罹患した。本件では、食パン製造従事者の衣服や糞便から患者と同様のノロウイルスが検出されており、従事者の糞便や吐物に含まれるノロウイルスが食品汚染の原因であると考えられた。この様に食品取扱者を経てノロウイルス食中毒が起こり、大規模なアウトブレイクになることがある。しかしながら上記のような罹患者が1,000人を超える大規模なノロウイルスアウトブレイクは原因食物が解明されているが、二枚貝を含む魚介類の生食による報告はない。一方で、大規模ではないノロウイルス集団感染の原因食物として発表されている事例はわずかであり、その限定的な情報に限れば魚介類の生食によることとされることが多い<sup>38</sup>。更には、孤発性ノロウイルス感染に関する原因食物に関しての報告や研究は、ほぼ見当たらないのが現状である。

また海外からの報告を考慮すると、米国におけるノロウイルス性食中毒の原因食物としては、葉菜類が33%、果物やナッツが16%、軟体類が11%と、上述した本邦の報告とは大きく異なる<sup>46</sup>。それらのうち、53%が食品取扱者を介しての食中毒とされて

いる。このようにノロウイルス感染の原因食物は、特に成人孤発例において未だ不明確であり、魚介類特に二枚貝の生食を主な危険因子とするには疑問が残る。

## 2-5 ノロウイルスの糞口感染

ノロウイルスの感染経路として、吐物を介する伝播も重要であるが、糞口感染が主たる感染経路である<sup>23</sup>。糞口感染の感染経路の主な詳細は、ノロウイルスを含む糞便が手やドアノブ等を介して直接伝播し他者の口腔内に入る経路と<sup>47, 48</sup>、ノロウイルスを含む糞便で汚染された食物を介することで他者の口腔内に入る経路とが示唆されている。近年ではそれらに加え、ノロウイルス性胃腸炎患者の周囲にいる者が、糞便や吐瀉物から舞い上がる飛沫を口腔内に吸入する経路でも伝播することが知られている<sup>26, 49</sup>。ノロウイルスはウイルス粒子が最小 18 粒子で感染成立すると報告されており、糞口感染によりコミュニティや家族内では 30%以上が二次感染するといわれる、非常に感染性が強いウイルスである<sup>50</sup>。更にノロウイルス性胃腸炎患者は、症状が消失した後もウイルスを糞便中に排出し続けることが知られており、後述する食品取扱者等を介して気が付かないまま糞口感染が成立し、大規模感染を起こしうる<sup>51-53</sup>。また自然環境下でウイルス学的に安定している点も、糞口感染成立に寄与していると言える<sup>23</sup>。このように糞口感染は、環境下で安定しているノロウイルスが複数の経路を経て、糞便から他者の口腔内に到達することで成立する。

## 2-6 ノロウイルスによる食物汚染

糞口感染の重要な経路の1つとして、上述した食物の汚染によるノロウイルス性食中毒が挙げられ、二枚貝や果物といった様々なものが指摘されており、それらは糞便や吐物から汚染されたものと考えられている<sup>54-56</sup>。過去の研究でノロウイルスとの関連が示唆されている食べ物としては、二枚貝以外の生の魚介類、生野菜サラダ、サンドイッチ、持ち帰り食等が挙げられている<sup>57, 58</sup>。ノロウイルスは感染力がとても強く自然環境下でも比較的安定しているため、食物汚染経路は多岐にわたる<sup>28</sup>。つまり食物汚染は、製造、運搬、調理及び配膳までの様々な段階で起こる可能性がある。ノロウイルスによる食物汚染はヒトの糞便により汚染された灌漑用水を通じて穀物でも報告があり<sup>59</sup>、一方でノロウイルス不顕性感染をもつ食品取扱者を介した調理済み食品の汚染や、汚染水を介した魚介類の汚染も報告されている<sup>60, 61</sup>。

## 2-7 二枚貝とノロウイルス

二枚貝を始めとする魚介類の食物汚染は、ノロウイルスによるもののみならず<sup>62, 63</sup>、ロタウイルス<sup>64</sup>、サポウイルス<sup>65</sup>やA型肝炎ウイルス<sup>66</sup>でも報告がある。牡蠣を含む二枚貝は特徴的な濾過器官をもっており、それによりノロウイルスは濃縮され二枚貝内に高濃度に蓄積される<sup>67, 68</sup>。下水により汚染された海水環境下で二枚貝が成長すると、濾過器官がある中腸腺にてノロウイルスは濃縮・蓄積される<sup>69</sup>。更に、近年の研究では二枚貝の中腸腺に存在するA型ヒト組織血液型抗原類似構造(type-A like

histo-blood group antigens: HBGAs)<sup>70</sup> に対し、ノロウイルスはこれに特異的に結合することがわかっている<sup>71,72</sup>。二枚貝は単にノロウイルスに汚染されているのみならず、中腸腺で濃縮・蓄積されているため、単純な洗浄で取り除くことが出来ない<sup>73</sup>。その結果二枚貝は他の汚染食物に比べて、ノロウイルスの汚染量が多い可能性がある。つまり二枚貝を摂取することは他の汚染食物を摂取するのに比べ、ノロウイルス性胃腸炎を起こす更なる危険性がある可能性がある。

これらを踏まえ、本邦におけるノロウイルス性胃腸炎は食中毒によるものも重要な割合を占めており、生食歴特に二枚貝の喫食が関与している可能性が示唆される。しかしながら私の知る限りでは、成人急性腸炎患者における特定の食物の喫食歴とノロウイルス感染の関連性を調査した、症例対照研究や比較研究は限られている<sup>58,74</sup>。そのため本邦における外来成人患者を対象に、特に二枚貝に着目した、喫食歴と急性胃腸炎及びノロウイルス感染との関連性を、症例対照研究により調査した。

### 3 研究目的

本研究の目的は本邦における成人患者において、二枚貝を含む特定の喫食歴が、急性胃腸炎及びノロウイルス感染の危険因子となりえるか否かを評価することである。本研究の結果により、二枚貝などの喫食歴の寄与割合が低いことが明らかになれば、食品衛生以外の、ノロウイルスを含めた下痢症の病原体感染の伝播経路の予防手段を講じることが求められる一方、二枚貝の喫食歴が下痢症やノロウイルス感染による下痢症への寄与が大きい場合には、これまで以上に食中毒に対する対策を講じることが、本邦におけるノロウイルス感染を減少させ、医療・経済的な疾病負担軽減に繋がると考えた。

## 4 研究方法

### 4-1 研究デザイン

本研究は、東京都中央区に所在する聖路加国際病院における、マッチングを用いた前向き症例対照研究である。研究期間は、東京都における感染性胃腸炎流行時期である9月から3月までとし、2015年9月から2016年3月、2016年9月から2017年3月の、二期間の感染性腸炎流行時期にわたって行った<sup>75</sup>。同院一般内科外来を、下痢を主訴に来院した独歩の患者を下痢症症例とした。一方で、同外来を胃腸炎以外の症状で受診した者の中で、それぞれの症例と年齢及び性別をマッチングした患者を非下痢症対照患者とした。下痢症症例群と非下痢症対照患者群間で、患者背景及び喫食歴を質問票(図1)の回答結果をもとに比較した(図2内、解析1)。また下痢症症例群の中では、ノロウイルス陽性下痢症症例とノロウイルス陰性下痢症症例者間で、同様の比較を行った(解析2)。さらに、ノロウイルス陽性下痢症症例とマッチングした非下痢症対照患者間でも、同様の比較を行った(解析3)。本研究の全体像を図2に示す。

### 4-2 研究倫理審査

本研究は東北大学倫理委員会(承認番号:2015-1-266)、及び聖路加国際病院倫理委員会(承認番号:15-R015)の承認を受けた。

#### 4-3 研究対象

下痢症症例：本研究を施行した二期間において、同院一般内科外来を受診した下痢症状を有する 20 歳から 75 歳までの独歩の患者全員に、研究参加を依頼した。下痢症状は、世界保健機関の定義に基づき、1 日 3 回以上の軟便または水様便（または、個人における通常の便回数よりも多い排便）と定義した<sup>76</sup>。一方で 2 週間以上続く下痢症状を有するものは除外した。更に、嘔気や嘔吐症状のみで下痢症状を有さない患者は、症例・対照のいずれの群からも除外した。研究参加に書面で同意し、便検体の提出があった者を最終的な症例とした。なお、研究説明に関しては担当したそれぞれの医師が口頭で行った上で、参加同意が得られた者に対してからのみ書面を得た。質問票での参加と便検体の提供による参加に関する内容を含み、本研究に使用する目的のみであることを説明した。得られた情報及び検体を二次利用する際は、再度各施設での倫理審査から承認を得た場合のみ使用可能とした。

非下痢症対照患者：同外来を下痢、嘔気または嘔吐といった胃腸炎症状以外の理由で受診した患者で、似通った患者背景（同性及び年齢差 5 歳以内）である者を、対照患者候補とした。対照患者候補は、急性症状または慢性疾患のいずれを持つ者でも適格とした。最終的な非下痢症対照患者は、研究参加に同意し質問票を提出したものとした。更に便検体提供に同意した者からは、便検体の提供を受けた。下痢症症例と非下痢症対照患者は、1 対 2 の比率で募集した。

経口摂取できない者（例：胃瘻使用者）、来院時に既に認知症と診断されている者、

過去 4 週間以内に入院歴があるもの、悪性腫瘍の治療中であるもの、免疫抑制剤を使用しているものは、下痢症症例及び非下痢症対照患者から除外した。本研究では、すべての患者から書面による参加同意書を得た。

#### 4-4 質問票

すべての患者に対し同一の質問票を用い、喫食歴に関して医療面接した。質問票は本研究に使用する目的で新たに作成し、筆者及び研究協力者による内容的妥当性の検証を行った(図 1)。質問票では、特に二枚貝の喫食歴に重点を置き、貝の種類、喫食日時、個数、調理方法、喫食場所及び同じものを喫食した者がいたかどうかを聴取した。二枚貝の種類に関しては、患者の喫食歴をより正確に想起するため、それぞれの二枚貝につきカラー写真を 3 つずつ示した。二枚貝の種類は本邦でよく食される、1. シジミ(学名: *Cyrenidae*)、2. タイラギ(学名: *Atrina pectinata*)、3. ホタテ(学名: *Mizuhopecten yessoensis*)、4. 牡蠣(学名: *Pterioidea*)、5. ナミ貝(学名: *Panopea japonica*)、6. ムール貝(学名: *Mytilidae*)、7. アカ貝(学名: *Anadara broughtonii*)、8. ホッキ貝(学名: *Pseudocardium sachalinense*)、9. アサリ(学名: *Ruditapes philippinarum*)、10. ハマグリ(学名: *Meretrix lusoria*)、11. ウチムラサキ(学名: *Saxidomus purpurata*)、12. その他二枚貝を挙げた。更に、過去の研究でノロウイルスとの関連が示唆されている食物である、二枚貝以外の生の魚介類、生野菜サラダ、サンドイッチ、果物、持ち帰り食及び外食の喫食歴に関しても聴取した<sup>57,58</sup>。



#### 4-5 臨床情報の収集

下痢症症例では、臨床症状とバイタルサインに関する情報を収集した。症状の詳細は、下痢の期間と頻度、血便の有無、嘔気や嘔吐の回数、体熱感及び発熱に関して聴取した。更に症状発症 2 週間前までさかのぼり、他の下痢症患者との接触歴を聴取した<sup>23, 28, 77</sup>。下痢症患者接触歴とは、家庭内または学校／職場にて、下痢症状を有する人と接触があったかどうかを指す。また、ニューメリカル レーティング スケール (Numerical rating scale: NRS) を使用し、腹痛の重症度も評価した<sup>78</sup>。ニューメリカル レーティング スケールは、0 が痛みなし、10 が想像できる最大の痛みとして、0～10 までの 11 段階に分けて、現在の痛みがどの程度かを患者自身に指摘してもらう疼痛の指標である。更にすべての患者から、ブリストルスケールを用いた便の形状に関する情報も得た<sup>79</sup>。ブリストルスケールは便の形状を表すものであり、1 から 7 に分類され数値が大きい程軟らかい便となる。1 は硬くてコロコロした兎糞状の便であり、7 は水様で固形物を含まない便と表現される。

#### 4-6 便検体

便検体は、すべての下痢症症例から及び、便検体提供に同意した非下痢症対照患者から採取した。便検体は 300ml の滅菌容器にて患者自身が採取し、研究者が 2.0cc の Cryotube® (サーモフィッシュャー・サイエンティフィック社、ウォルサム市、マサチューセッツ州) に分注し、-80℃の冷凍庫にて保管した。すべての便検体にノロウイルス

ス RNA 検出のため、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(real-time reverse transcription (RT) PCR)を行った。ノロウイルス RNA は QIAamp Viral RNA Mini Kit® (キアゲン、ヒルデン市、ドイツ)を用いて抽出し、M-MLV Reverse Transcripase® (インヴィトロゲン、ウォルサム市、マサチューセッツ州)と Random primer® (インヴィトロゲン、ウォルサム市、マサチューセッツ州)を用いて、相補的 DNA を合成するための逆転写を行った。TaqMan Fast Advanced Master Mix® (アプライド バイオシステムズ、ウォルサム市、マサチューセッツ州)を使用し、プライマー(COG1F と COG1R を遺伝子グループ G I 用に、COG2F と COG2R を G II 用に使用)とプローブ(RING1b と RING1b を G I 用に、RING2-TP を G II 用に使用)を用いて、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応を行った<sup>80</sup>。リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応で陽性であったすべての便検体は、Genetic analyzer3500® (アプライド バイオシステムズ、ウォルサム市、マサチューセッツ州)を用いて、サンガー法によりそのノロウイルス遺伝子型を解析した。G I ノロウイルスの遺伝子型解析には、G I SKF と G I SKR というプライマーを用い<sup>81</sup>、G II ノロウイルスには G II 4766F と G II SKR を用いた(補助資料)。この G II 4766F というプライマーは、G II ノロウイルスのポリメラーゼとカプシド両方の遺伝子型を同定するために接合部分を含むポリメラーゼとカプシドの一部の領域を増幅するように設計されており、すべての G II ノロウイルス遺伝子型に対して、G II SKF/G II SKR と同様の感度・特異度を有している<sup>82</sup>。

#### 4-7 サンプルサイズ

過去の研究では、高所得国における汚染が疑われる食物の胃腸炎に対するオッズ比は 4.7 から 21.0 倍と報告されている<sup>83-86</sup>。本研究ではより厳しい基準で評価するため、予想オッズ比を 3.0 倍、 $\alpha$  を 0.05、検出力を 0.95 とし、30%の患者が二枚貝を摂取すると想定し、下痢症症例と非下痢症対照患者の比率を 1 対 2 として、サンプルサイズを計算した。その結果、少なくとも 67 名の下痢症症例と 134 名の対非下痢症対照患者が必要と算出された。

#### 4-8 統計解析

最初に患者背景、ノロウイルス陽性サンプルの割合及び喫食歴を、下痢症症例群と非下痢症対照患者群間で比較した(図 2 内、解析 1)。解析には t 検定及びフィッシャー正確検定を用いた。また二枚貝を含む喫食歴による、下痢症に対する寄与危険割合を、粗オッズ比を用いて計算した<sup>87</sup>。

次に、ノロウイルス陽性下痢症症例群とノロウイルス陰性下痢症症例群間(解析 2)で、更にノロウイルス陽性下痢症症例群とマッチングした非下痢症対照患者群間(解析 3)で、喫食歴の比較を行った。前者においては症状、バイタルサイン及びブリストルスケールの比較を行い、後者においてはノロウイルス陽性に対するそれぞれの喫食歴の寄与危険割合を計算した。

最後に、下痢症症例内において臨床的観点からノロウイルス陽性に相関する因子の

評価も行った。更に、臨床的に重要である変数と単変量解析にて  $p$  値が 0.05 未満であった変数を調整因子とし、研究目的とした説明変数(二枚貝喫食歴及び二枚貝生食歴)に関して、ノロウイルス陰性下痢症症例に対するノロウイルス陽性下痢症症例(目的変数)の、オッズ比及びその 95%信頼区間(confidence interval: CI)を計算するため、多変量解析を行った<sup>88,89</sup>。結果を確認するため、調整因子を変更し感度分析を行った。

これらの解析を SPSS 19.0J (IBM、東京、日本)と STATA MP 14.0 (STATA corp. LLC、カレッジステーション、テキサス州)を用いておこなった。

## 5 研究結果

### 5-1 下痢症症例と非下痢症対照患者の比較 (n=69 vs. n=138)

合計 207 名の患者を集め、そのうち 69 人が下痢症症例で、138 人が非下痢症対照患者であった。そのうち、72 人 (34.8%) が男性で、平均年齢は 38.5 歳 (標準偏差: 12.4 歳) であった (表 1)。非下痢症対照患者の受診理由や診断の内訳は、73 名が急性症状・疾患 (上気道炎、急性腰痛、頭痛等) であり、65 名が慢性症状・疾患 (ピロリ菌感染症、高血圧、慢性腰痛) であった。便検体は下痢症症例全員からと、26% (138 人中 36 人) の非下痢症対照患者から収集し、ノロウイルスの検査を行った。その中で、27 人がノロウイルス G I (1 名) または G II (26 名) 陽性であった。ノロウイルスは非下痢症対照患者 (8.3%、36 名中 3 名) に比べ、下痢症症例 (34.8%、69 名中 24 名) で多く検出された (オッズ比: 5.87, 95%CI: 1.56-32.5)。下痢症患者のうち 28 名 (40.6%) に診療目的の便細菌培養が施行されたが、3 名のみ細菌陽性でありいずれもカンピロバクターであった。

喫食歴の質問票では、全体で 60 名 (29.0%) が二枚貝の喫食歴があると回答した。回答頻度が高い二枚貝は、ホタテ (n=17)、牡蠣 (n=17) 及びアカ貝 (n=7) であった (表 2-1)。非下痢症対照患者に比べ下痢症症例では、二枚貝喫食歴が若干多い傾向にあったが、統計学的有意差は認めなかった [31.9% 対 27.5%, オッズ比: 1.23 (95%CI: 0.62-2.41)]。この現象は、二枚貝生食歴においても同様であった [(13.0% 対 11.6%, オッズ比: 1.14 (95%CI: 0.42-2.94)]。二枚貝喫食による、下痢症に対する寄与危険割

合は 6.0%であり、二枚貝生食によるものは 1.6%であった。すべての調理法で二枚貝を喫食した 60 名の中で、非下痢症対照患者に比べ下痢症症例では牡蠣を喫食した割合が高かった[45% (22 名中 10 名) 対 18% (38 名中 7 名),  $p = 0.04$ ]。

## 5-2 ノロウイルス陽性下痢症症例とノロウイルス陰性下痢症症例の比較 (n=24 vs. n=45)

ノロウイルス陽性下痢症症例は 24 例、ノロウイルス陰性下痢症症例は 45 例であった。表 3 は、ノロウイルス陽性下痢症症例とノロウイルス陰性下痢症症例間の、背景因子の比較である。平均年齢は、ノロウイルス陰性下痢症症例に比べ、ノロウイルス陽性下痢症症例のほうが若かった ( $p$  値=0.02)。二枚貝の喫食歴 [ $p$  値=0.28; オッズ比:1.96 (95%CI: 0.69–6.31)] と、二枚貝生食歴 [ $p$  値=0.06; オッズ比:4.67 (95%CI: 0.86–31.25)] に関しては、ノロウイルス陰性下痢症症例に比べ、ノロウイルス陽性下痢症症例での報告割合が高かった。更に二枚貝の種類においては、生食においても [20.8% (24 名中 5 名) 対 0.0% (45 名中 0 名)、 $p$  値<0.01]、すべての調理法においても [29.2% (24 名中 7 名) 対 6.6% (45 名中 3 名)、 $p$  値=0.01]、牡蠣の喫食歴が最も多くみられた (表 2-2)。二枚貝喫食歴によるノロウイルス陽性に対する寄与危険割合は 20.5%であり、二枚貝生食歴による寄与危険割合は 19.6%であり同等であった。下痢症患者接触歴があるものを除いたサブグループ解析では、二枚貝の生食歴は、ノロウイルス陰性下痢症症例に比べ、ノロウイルス陽性下痢症症例においてより多く報

告されていたが(オッズ比: 3.47, 95%CI: 0.48—27.2,  $p$  値=0.13)、生食以外での調理法により二枚貝を喫食した場合では各群に差を認めなかった。(オッズ比: 0.76, 95%CI 0.17—3.45,  $p$  値=0.72)。

### 5-3 ノロウイルス陽性に対する臨床情報の比較及び多変量解析結果 (n=24 vs. n=45)

ノロウイルス陽性下痢症症例はノロウイルス陰性下痢症症例に比べ、症状発症後早期に病院を受診しやすく( $p$  値<0.01)、頻回の嘔吐があり( $p$  値<0.01)、学校や職場での下痢症患者接触歴が少なかった( $p$  値=0.04) (表 4)。バイタルサインにおいては、脈拍がより多く( $p$  値<0.01)、体温もより高い傾向がみられた( $p$  値<0.01)。学校／職場内で下痢症患者接触歴があるものは 7 名全員がノロウイルス陰性下痢症症例であり、5 名の患者は医療従事者であった。そのうち 1 名は初期研修医、1 名は栄養士、3 名は看護師であった。年齢・性別、バイタルサイン及び症状で調整した多変量解析では、複数のモデルで二枚貝生食歴とノロウイルス陽性であることが統計学的に関連していた(調整オッズ比の範囲: 3.26—6.03, 5 つのモデルのうち 2 つで統計学的有意差が認められた)(表 5-1)。しかし、すべての調理方法による二枚貝喫食歴は、ノロウイルス陽性であることと統計学的に関連していなかった(調整オッズ比の範囲: 1.88—3.48) (表 5-2)。

#### 5-4 ノロウイルス陽性下痢症症例とマッチングした非下痢症対照患者の比較

(n=24 vs. n=48)

下痢症症例のうち 24 名がノロウイルス陽性症例であり、同症例とマッチングした非下痢症対照患者 48 名を比較解析した。48 名の非下痢症対照患者のうち、13 名 (27.1%) が便検体を提供し、1 名 (7.7%) がノロウイルス陽性であった (図 2)。ノロウイルス陽性下痢症症例はマッチングした非下痢症対照患者に比べ、二枚貝の生食歴 [25.0% 対 6.3%、 $p$  値=0.03; オッズ比: 5.00 (95%CI: 1.13–22.2); 寄与危険割合 20.0%] が多かった (表 3)。すべての調理法による二枚貝喫食はノロウイルス陽性下痢症症例でより多く回答が見られたが (41.7% 対 25.0%)、統計学的有意差は認めなかった [ $p$  値=0.15; オッズ比: 2.14 (95%CI: 0.76–6.07; 寄与危険割合 22.2%)]。非下痢症対照患者とノロウイルス陰性下痢症症例においては、二枚貝の喫食歴は同程度であった (生食歴: 6.7% 対 6.3%、すべての調理法による喫食歴: 26.7% 対 25%)。

#### 5-5 ノロウイルスの遺伝子型

リアルタイム RT-PCR が陽性であった検体すべてに、遺伝子型決定を行うことが出来た。そのうち 1 例のみ遺伝子グループ G I が陽性であり、遺伝子型は G I.4 であった。その他はすべて遺伝子グループ G II であり、2015 年 9 月から 2016 年 3 月の流行期では遺伝子型 G II.Pe\_G II.4 Sydney\_2012 (30.8%) と G II.P17\_G II.17 (30.8%) が最も多く検出された。一方で、2016 年 9 月から 2017 年 3 月の流行期では、遺伝子型 G



II.P16\_GII.2 (61.5%) が最も多く検出された(表 6)。10 名のノロウイルス陽性下痢症患者は二枚貝を喫食しており、遺伝子型はそれぞれ GII.P17\_GII.17 が 3 名、GII.P16\_GII.2 が 3 名、GII.P12\_GII.3 が 2 名、GII.P16\_GII.13 が 1 名、GI.4 が 1 名であった。遺伝子型が GII.Pe\_GII.4 (Sydney 2012)であった 4 名の患者は、二枚貝の喫食歴を認めなかったが、家族内で下痢症患者との接触があった。

## 6 考察

### 6-1 結果のまとめ

本研究では成人患者において、二枚貝の喫食歴及び生食歴は下痢症と統計学的な相関は認めなかったが、下痢症患者内においては二枚貝の生食歴はノロウイルス陽性であることと相関していた。過去の研究でノロウイルス感染との関連性が報告されているその他の喫食歴に関しては、下痢症との相関は認めなかった。

### 6-2 他の研究・調査との比較

ノロウイルスは成人外来患者を対象とした本研究でも、急性胃腸炎の原因として最も重要な病原体の1つであった。ノロウイルス感染は小児のみならず、すべての年代に感染する<sup>23</sup>。本研究では、小児<sup>90</sup>や介護施設に入居している高齢者<sup>91</sup>といったノロウイルス感染の重症化ハイリスクグループは含まれていない。過去のシステマティックレビュー・メタアナリシスによると、低・中所得国では、年齢別のノロウイルス罹患率に有意差は認めていない<sup>92</sup>。一方で英国にて行われた調査では、小児ではノロウイルスによる罹患率が高かったが、高齢者を含むそのほかの年代では差を認めなかった<sup>93</sup>。厚生労働省によると本邦では2017年の急性胃腸炎患者のうち、およそ56.3%がノロウイルスによるものと報告されている<sup>40</sup>。本研究では、ノロウイルスはそれより低い約3分の1の患者で陽性であった。これは、本研究では高所得国で高頻度と思われる小児例が除かれたことや、本邦においては感染性胃腸炎の症例数を報告してい

る定点観測を行う医療機関が小児科を中心に行われているためであると考えられる。

食中毒の原因として、ノロウイルスは世界的に重要な病原体だが、報告されている原因食物は様々であり、更にそれらを特定することも困難である<sup>40,94</sup>。本研究では下痢症症例において、二枚貝の生食歴はノロウイルス陽性と相関していた。これは二枚貝の生食による食中毒がノロウイルス関連下痢症に、ある程度寄与していることを示唆した。下痢症患者接触歴があるものを除きヒトーヒト感染の影響を軽減させたサブグループ解析では、二枚貝の生食歴は、ノロウイルス陰性下痢症症例と比べノロウイルス陽性下痢症症例において多かったが、生食を除く調理法により二枚貝を喫食したことでは各群に差を認めなかった。(オッズ比: 0.76)。言い換えると、下痢症患者接触による糞口感染の影響を軽減し二枚貝の生食による食中毒の影響を考慮したところ、生食以外は影響がほとんどないと考えられ、より調理法の重要性和、生食用の牡蠣の品質管理が難しいことがわかった。一方で、その他すべての食物の喫食歴はノロウイルス陽性と関連を認めなかった。それゆえ、二枚貝は他の食物に比べ、食中毒によるノロウイルス感染により寄与していると考えられた。さらに二枚貝の喫食歴があるものの中では、ノロウイルス陽性下痢症症例においてより牡蠣を喫食したとの回答が多く認められた。牡蠣を摂取したと報告した者の数自体は少なかったが、ヒト組織血液型抗原類似構造といった牡蠣の生物学的特徴により<sup>70</sup>、他の二枚貝に比べてより影響があったものと考えられた。また二枚貝の種類に関しては、本研究において参加者は主にホタテ、牡蠣及びアカ貝を摂取していた。それらの中で、ノロウイルス陽

性下痢症症例はノロウイルス陰性下痢症症例に比べ、ホタテと牡蠣を多く喫食していたが、アカ貝に関しては両群における喫食率が同程度であった(表4)。この違いは、二枚貝の種類により喫食部位が異なるためと考えられた。ノロウイルスは主に中腸腺に蓄積されており、主な感染源と考えられる<sup>69</sup>。本邦においては、通常牡蠣は中腸腺を含む全体を生食するのに対し、ホタテやアカ貝では中腸腺を除くことが多い。ホタテにおいては貝柱以外の部位を生食するものもいるかもしれないが、アカ貝の他の部位を生食することは珍しい。この喫食部位の違いが、それぞれの二枚貝の間でノロウイルス陽性割合が異なった原因の可能性がある。

一方で過去の研究結果に反し、二枚貝の喫食歴は、例え生食であっても、下痢症との関連を認めなかった<sup>85,86</sup>。この結果は英国にて行われた結果と同様であり<sup>58</sup>、その研究では牡蠣喫食歴の、急性胃腸炎に対する寄与する割合は比較的低いと結論つけている(同研究における寄与危険割合：2%、95%CI:0-4%；本研究における寄与危険割合1.6%)。これはおそらく、急性腸炎としてはノロウイルス以外の病原体による寄与があり、更にはノロウイルスによる下痢症においても食中毒以外の伝播経路による感染が寄与しており、二枚貝の食中毒による急性腸炎に対する寄与は全体に比べ限定的であるからと思われる。つまり二枚貝喫食はノロウイルス陽性に対してはある程度の影響を与えるが、下痢症全体に対しては大きな影響を与えているわけではないといえる

<sup>95</sup>。

興味深いことに、本研究ではノロウイルス陽性下痢症症例はノロウイルス陰性下痢

症症例に比べ、下痢症患者接触歴はないと回答した者が多かった。過去の研究でも同様に、急性胃腸炎患者において他の病原体が原因である患者よりもノロウイルス陽性である患者の方が、下痢症症例との接触が少ないと報告されている<sup>96</sup>。これにはいくつかの理由が考えられる。まず初めに、感染源と考えられるノロウイルス感染者は比較的弱い症状または無症候性であった可能性があり、本研究の患者が接触に気が付かなかった可能性がある。健常人においては、ノロウイルス感染の特徴の一つとして、感染後比較的長期間ノロウイルスを糞便中に排泄していることがあり、更には無症候性感染も報告されている<sup>97</sup>。ノロウイルスは感染性が強く、他の病原体に比べて少量のウイルス粒子でも感染が成立するため<sup>28</sup>、非重症患者や無症候性患者と接触したことにより、本研究の患者は急性胃腸炎を発症したかもしれない。その結果、患者は明確に下痢症患者との接触に気づかず、回答できなかった可能性がある。次に、ノロウイルス陰性下痢症患者は、感染性がより強く胃腸炎症状を伴う他の病原体に暴露した可能性がある。例えば、インフルエンザをはじめとしたウイルス性上気道感染では胃腸炎症状を伴うことがあるが、接触、飛沫、空気感染により、ノロウイルスの糞口感染よりも多くの人に感染する可能性がある。また、本研究における7名の下痢症患者接触歴があるノロウイルス陰性下痢症症例のうち、5名の患者は医療従事者であった。1名は初期研修医、1名は栄養士、3名は病棟看護師であり、いずれも同院では外来患者をケアする機会が少ない。また、医療従事者は下痢症との接触をより多く報告した可能性がありそれを考慮すると市中感染よりも、院内で比較的多く認められるクロス

トリジウム・ディフィシル等による病原体と接触歴との関連が過大評価されている可能性がある<sup>98</sup>。

臨床所見としては、本研究ではノロウイルス陽性下痢症症例は、ノロウイルス陰性下痢症症例に比べ、頻回の嘔吐、頻脈及び症状発症から外来受診までの期間が短い傾向にあった。これらの所見は、過去の研究でも認められている<sup>96, 99, 100</sup>。ノロウイルスは、ヒトの小腸のみならず十二指腸にも感染するため上部消化管症状、例えば嘔吐や嘔気が出やすい傾向にある<sup>101, 102</sup>。ノロウイルス性胃腸炎患者では、その他の病原体による胃腸炎と下痢の回数が同程度であったとしても、頻回の嘔吐が脱水を招き血管内脱水となることで、心拍数が増加する。頻回の嘔吐及び脱水によって、患者は発症早期に外来を受診する可能性も考えられる。更に本研究では、ノロウイルス陰性下痢症例と比べノロウイルス陽性下痢症例は、35才未満の患者により多く認められた。過去の報告によるとノロウイルスの罹患率は、5歳未満の乳幼児で特に高いとされる<sup>93</sup>。本研究での研究対象はすべて成人ではあるが、ノロウイルス陽性下痢症例は5歳未満の乳幼児を持つ親である可能性があり、意識せず家庭内での接触があった可能性がある。さらに、遺伝子型が多様なノロウイルスにおいては、複数回感染が多く認められ、成人においても若年での罹患率が高い可能性があると考えられた。

ノロウイルスの遺伝子グループについては、東京都感染症情報センターによると2015年9月から2016年3月の流行期では、162検体のノロウイルス陽性検体のうち、89.5%はGⅡが陽性であり、6.8%がGⅠ陽性、3.7%がGⅠ及びGⅡの両方が陽性であっ

た<sup>103</sup>。本研究でも同様に検出されたノロウイルスはGⅡが多くを占めており(96.3%)、GⅠ陽性は3.7%にとどまっていた。GⅠとGⅡの両方とも陽性であるものは認めなかった。ノロウイルスの遺伝子型においては、東京での流行はGⅡ.4が47.8%、GⅡ.17が20.0%、GⅡ.3が17.9%であったのに対し、本研究ではGⅡ.4が30.8%、GⅡ.17が30.8%、GⅡ.3が23.1%であった。これらの結果から、主要な遺伝子型に関しては東京都で流行していたものと同様であった<sup>103</sup>。興味深いことに、GⅡ.Pe\_GⅡ.4 (Sydney 2012)陽性であった4名の下痢症症例はいずれも二枚貝の喫食歴がなかったが、3名は下痢症患者との接触歴を認めた。過去の研究ではノロウイルスのウイルス学的違いが、特定株による流行を起こしているといわれている<sup>104</sup>。実際遺伝子型GⅡ.4は、食中毒による感染よりもヒト-ヒト感染を起こしやすいとされているが<sup>35</sup>、これは感染者からのウイルスの排出期間がGⅡ.4では比較的長いことと関連している可能性はある<sup>105</sup>。東京都感染症情報センターの報告でも本研究での結果からも、2012/13シーズンより蔓延しているGⅡ.4 (Sydney 2012)は2015/16シーズンにおいても一定数検出されており<sup>103</sup>、集団免疫はまだ十分に獲得されていない可能性がある。しかしながら、過去の報告では上述したように、GⅡ.4は入院加療を要したり、死亡率が高かったりすることが報告されているが、本研究ではいずれも当てはまらなかった。

下水にもさらにそれを濾過している牡蠣にもその時点での流行株(GⅡ.17)が反映されており、本研究でもGⅡ.17陽性であった症例で牡蠣を喫食した症例が3例あり、ヒトからの下水、牡蠣、ヒトという伝播が起こっている可能性が示唆された。実際に、

下水からの検出とヒトで検出される遺伝子型の相関に関することが過去の研究からわかっている<sup>106</sup>。

### 6-3 日本における食中毒の報告の偏り

本邦における食中毒事件一覧は、厚生労働省により 2000 年から公表されている<sup>40</sup>。記述統計的な事項は上述の通りであるが、原因食品に関しては報告に偏りがある可能性がある。まず上述した食品衛生法では医師の報告義務があるとされるが、症例数に関する具体的な基準は定義されておらず、個々の医師の判断にゆだねられている。そのため、散發性の症例は報告されていない可能性がある。更に 2000 年の食中毒発生事例によると、全 2,315 件の報告のうち 1,497 件(64.7%)が原因食品不明とされている。2017 年の同事例では報告の質は改善傾向ではあるものの、1,022 件中 485 件(47.5%)が未だ原因食品不明である。そのため、欠損情報による選択バイアスが存在する可能性が大きい。また本邦ではノロウイルスと二枚貝、特に牡蠣との関連性は広く周知されており、厚生労働省からも公表されている<sup>107</sup>。そのため胃腸炎症状を発症したものは、二枚貝特に牡蠣に対して鋭敏となり、思い出しバイアスが存在している可能性がある。実際、上記食中毒事件一覧内の、原因食品として牡蠣と記載があるものに関しても、【推定】や【牡蠣を含む料理】等と記載されており、牡蠣に対する被疑が強い一方で、断定しているものはわずかである。また、牡蠣を除く二枚貝が原因食物とされる事件も認めなかった。本研究の結果から牡蠣を含む二



枚貝の喫食歴は胃腸炎発症と関連していないものの、本邦における食中毒の報告では牡蠣に言及するものが散見され、報告に偏りがあるものと考えられた。

#### 6-4 二枚貝によるノロウイルス感染の対策

二枚貝によるノロウイルス感染対策として一般的に行われている方法は、加熱方法である。上記の通りノロウイルスは熱に対して比較的安定であるため、85-90℃で90秒以上の加熱が推奨される<sup>107</sup>。ウイルス失活に必要な、正確な温度や加熱時間は、ノロウイルスの組織培養方法が十分確立していないため未だ不明である。

加熱方法は最も効果が期待できる感染予防方法であるが、本邦を含め世界的に嗜好目的に生食が行われる。そのため加熱方法以外の二枚貝によるノロウイルス食中毒対策の一つとして、本邦では下水処理対策が行われている。ノロウイルスによる二枚貝の汚染は、ノロウイルスを含む下水が海に流入することで、その場で成長した二枚貝に濃縮・濃縮されることで起こる。下水に含まれるノロウイルスのウイルス量は流行期で $10^5$ コピー/Lであり、非流行期では検出されないことが多い<sup>108</sup>。しかしながら、通常の下水処理に加え濾過処理、凝集剤添加、膜分離活性汚泥法やオゾン処理を行った再生水においては、ノロウイルスのウイルス量減少が報告されている<sup>108</sup>。また下水の影響を受けにくい場所で二枚貝を養殖・採取したり、海洋深層水等を用いたりする対策も取られている<sup>109</sup>。更には二枚貝の洗浄方法に関する研究も散見される。電解海水による浄化、20℃前後の温水による洗浄および高静水加圧

処理が、ノロウイルスを二枚貝より排除する方法として、実験的に提唱されている<sup>110</sup>。本邦のノロウイルスによる二枚貝汚染の対策が更に進歩することで、二枚貝によるノロウイルス関連胃腸炎の発症を減らすことが可能と考えられる。

また、近年では牡蠣業者による自主的なスクリーニングも行われている。牡蠣にノロウイルスが含まれたことが判明した場合、出荷中止を行ったり、加熱用として出荷したりする等の対策が取られている<sup>111</sup>。それにより本邦では近年牡蠣による食中毒が減っている可能性が指摘されている。

本研究の結果を踏まえると、二枚貝のノロウイルス性食中毒に対する寄与危険度は高いと考えられるが、急性胃腸炎全体に対する寄与危険度は低いと言える。出荷過程では牡蠣の洗浄や生食として出荷すべきかどうかのスクリーニングが行われ、加熱処理によるノロウイルス対策も啓蒙されている。つまり、上記対策が急性胃腸炎の発症予防にある程度効果を発揮しているためと考えられる。更なる二枚貝のノロウイルス汚染対策はノロウイルス性食中毒に対しては望まれるが、急性胃腸炎に対しては更なる効果は限定的であると思われる。

## 6-5 無症候性ノロウイルス感染による感染拡大

上述の通り、糞口感染や食中毒によるノロウイルス感染は一般的にノロウイルス胃腸炎患者を感染源として、感染拡大が起こっていると考えられている。しかしながら近年、下痢や嘔吐などの胃腸炎症状を持たず持続的にノロウイルスを排出する

ノロウイルス不顕性感染があることがわかっている。英国からの報告によると、ノロウイルス不顕性感染は5歳未満の小児で最も高く、罹患率は12%であった<sup>57</sup>。また別のシミュレーションモデルを用いた研究では、4歳未満の小児においては、感染率が低いモデルでは年間25%の不顕性感染成立率、感染率が高いモデルでは28%の不顕性感染成立率であった。しかしながら、罹患率になると感染率が低いモデルでは3%であるが、高いモデルであると48%になると計算された<sup>97</sup>。そのため、不顕性感染もノロウイルス胃腸炎感染拡大に寄与している可能性が示唆された。更に著者らが行っているノロウイルス不顕性感染の大規模調査（未公開データ）では、本邦における成人4,635名を対象にリアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法によりノロウイルスを検出した。結果292名(6.3%)の者に不顕性感染が見つかり、うちGI陽性であったものが114名、GII陽性であった者が185名、GI、GIIともに陽性であった者が7名であった。これらの結果を考慮すると、本邦でも不顕性感染によるノロウイルス感染拡大はある程度の割合を占めると考えられる。過去の研究では、無症候性の食品取扱者を原因としたノロウイルスの大規模アウトブレイクが多く報告されている<sup>112,113</sup>。実際に本研究においても、下痢症状を有さない対照患者において、36検体中3検体(8.3%)がノロウイルス陽性となっていた。前述の未公開大規模調査や過去の不顕性感染の研究に比べてわずかに高い傾向にあるが、検体数が少ないため正確な評価は困難であると考えられる。更なる検体収集が望まれる。

本研究の結果を通して、二枚貝生食による食中毒は、ノロウイルス性胃腸炎にはある程度寄与していると判明したが、急性胃腸炎全体に対しては、寄与は限定的と考えられた。この結果から、更なる二枚貝のノロウイルス汚染改善措置により、急性胃腸炎の発症を劇的に減らすことは困難と考えられる。本研究で調べた他の食物に関しても寄与危険割合は低く、食中毒自体の急性胃腸炎の寄与も低いと考えられた。そのため他の感染経路、特に糞口感染をはじめとするヒト→ヒト感染の予防に積極的に措置を講じることが有用であると考えられた。更なる衛生環境の改善や、感染対策に対する意識の向上が望まれる。

## 6-6 本研究の限界

本研究にはいくつかの限界がある。初めに、本研究は症例対照研究でありリスク比ではなくオッズ比しか計算することが出来ない。しかしながら多くの同様の研究でも研究デザインは限られており、そのことも踏まえると本研究結果は価値があるものと考えられる。更に、寄与危険割合は疫学的にも臨床診療においても役に立つと思われる。実行可能性は低いと考えられるが、二枚貝の喫食歴の有無を曝露因子としたコホート研究を用いれば、二枚貝の喫食者、非喫食者におけるノロウイルス関連下痢症の罹患リスクが比較できる。また、無症候であっても便検体を経時的に採取することができれば、喫食者、非喫食者におけるノロウイルスの暴露率、感染率の推定が可能である。具体的には本研究では 30%程度の二枚貝喫食歴を認めたので、二枚貝喫食群

300 例程度、非喫食群 700 例程度のコホート研究を行えば、本命題を十分に検証できると思われる。次に、症例対照研究であるため思い出しバイアスが存在する可能性がある。この問題を解決するためには同様に前向きコホート研究が必要である。更には研究を実施した施設が、保険外併用療養費のかかる私立大病院であるため、本研究の参加者が比較的高所得者層に偏っており一般人口を代表していない可能性がある。急性胃腸炎は多くの場合自然治癒するため、そもそも病院受診をしない者もいるかもしれない。比較的重症例が対象になっているというバイアスがあり、これを克服するには住民研究が必要になる。先の英国における研究は住民研究であったが、患者群には下痢症接触歴があるものが多く含まれていた。そのため孤発例に関する評価は困難である。本研究でも下痢症接触歴の聴取を行っており、サブ解析で接触歴があるものを除外した上で解析を行っているが、厳密に孤発性と言い切れない。より接触歴を詳細に聴取することで、また家族の糞便を検査することで、接触歴を完全に除外すると、孤発性急性胃腸炎と言えると思われる。そうすることで、より二枚貝のノロウイルス関連胃腸炎や急性胃腸炎に対する寄与危険割合は上昇するかもしれない。更に、質問票の妥当性の検討が必要である。本質問票は本研究のために独自で作成した質問票である。内容的妥当性に関しては専門家の意見を取り入れつつ作成したが、内的及び外的妥当性に関しては検証していない。今後の課題となりえる。また、本研究において非下痢症対照症例の便検体提供率が 26%と低値であることも限界と考えられる。これにより、便検体が得られなかった非下痢症対照症例において、仮にノロウイルス感

染率が高かった場合は更に二枚貝による寄与危険割合が下がると考えられる。一方で低い場合は、寄与危険割合が増す可能性がある。更には、喫食歴が下痢症状与える寄与以外の因子に関しても評価が不十分となる。下非痢症状を呈さない患者からの便検体採取は困難であったが、今後不顕性感染に関する更なる究明を行う際には、非下痢症患者からの多くの検体が必要となる。

## 7 結論

二枚貝の摂取や生食は、本邦において急性腸炎発症との関連性を認めなかった。しかしながら二枚貝の生食はノロウイルス陽性と統計学的な関連を認め、二枚貝のノロウイルス汚染を改善することで、本邦におけるノロウイルス関連下痢症の発症を減らせる可能性がある。

## 8 文献

1. Thorne LG, Goodfellow IG. Norovirus gene expression and replication. *J Gen Virol*. 2014;95(Pt 2):278-291.
2. Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology*. 2006;346(2):312-323.
3. Kroneman A, Vega E, Vennema H, et al. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol*. 2013;158(10):2059-2068.
4. Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, et al. Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology*. 2002;299(2):225-239.
5. Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, et al. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J Clin Microbiol*. 2004;42(7):2988-2995.
6. Jiang X, Espul C, Zhong WM, Cuello H, Matson DO. Characterization of a novel human calicivirus that may be a naturally occurring recombinant. *Arch Virol*. 1999;144(12):2377-2387.
7. Hasing ME, Lee BE, Preiksaitis JK, et al. Emergence of a new norovirus GII.4 variant and changes in the historical biennial pattern of norovirus outbreak activity in Alberta, Canada, from 2008 to 2013. *J Clin Microbiol*. 2013;51(7):2204-2211.
8. Parra GI, Squires RB, Karangwa CK, et al. Static and Evolving Norovirus Genotypes: Implications for Epidemiology and Immunity. *PLoS Pathog*. 2017;13(1):e1006136.
9. Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, et al. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus--United States, 2002. *J Infect Dis*. 2004;190(1):27-36.
10. Siebenga JJ, Vennema H, Zheng DP, et al. Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. *J Infect Dis*. 2009;200(5):802-812.
11. Centers for Disease C, Prevention. Emergence of new norovirus strain GII.4 Sydney--United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013;62(3):55.
12. Matsushima Y, Ishikawa M, Shimizu T, et al. Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region. *Euro Surveill*. 2015;20(26).
13. Lu J, Sun L, Fang L, et al. Gastroenteritis Outbreaks Caused by Norovirus GII.17, Guangdong Province, China, 2014-2015. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(7):1240-1242.
14. Straub TM, Honer zu Bentrup K, Orosz-Coghlan P, et al. In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(3):396-403.
15. Straub TM, Bartholomew RA, Valdez CO, et al. Human norovirus infection of caco-2 cells grown as a three-dimensional tissue structure. *J Water Health*. 2011;9(2):225-240.



16. Papafragkou E, Hewitt J, Park GW, Greening G, Vinje J. Challenges of culturing human norovirus in three-dimensional organoid intestinal cell culture models. *PLoS One*. 2014;8(6):e63485.
17. Jones MK, Watanabe M, Zhu S, et al. Enteric bacteria promote human and mouse norovirus infection of B cells. *Science*. 2014;346(6210):755-759.
18. Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, et al. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science*. 2016;353(6306):1387-1393.
19. Cuellar JL, Meinhoefel F, Hoehne M, Donath E. Size and mechanical stability of norovirus capsids depend on pH: a nanoindentation study. *J Gen Virol*. 2010;91(Pt 10):2449-2456.
20. Doultree JC, Druce JD, Birch CJ, Bowden DS, Marshall JA. Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J Hosp Infect*. 1999;41(1):51-57.
21. Duizer E, Bijkerk P, Rockx B, De Groot A, Twisk F, Koopmans M. Inactivation of caliciviruses. *Appl Environ Microbiol*. 2004;70(8):4538-4543.
22. 福祉保健局. きざみ海苔を原因とした食中毒事件の発生について. . 2017; <http://www.itabashi-kids.jp/cgi/member/itabashiku/28/3-2/3.pdf>. Accessed April 16, 2018.
23. Glass RI, Parashar UD, Estes MK. Norovirus gastroenteritis. *N Engl J Med*. 2009;361(18):1776-1785.
24. Centers for Disease Control and Prevention. Norovirus Worldwide. 2017; <https://www.cdc.gov/norovirus/worldwide.html>. Accessed July 8, 2017.
25. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(8):725-730.
26. Sawyer LA, Murphy JJ, Kaplan JE, et al. 25- to 30-nm virus particle associated with a hospital outbreak of acute gastroenteritis with evidence for airborne transmission. *Am J Epidemiol*. 1988;127(6):1261-1271.
27. Pires SM, Fischer-Walker CL, Lanata CF, et al. Aetiology-Specific Estimates of the Global and Regional Incidence and Mortality of Diarrhoeal Diseases Commonly Transmitted through Food. *PLoS One*. 2015;10(12):e0142927.
28. Lopman B, Gastanaduy P, Park GW, Hall AJ, Parashar UD, Vinje J. Environmental transmission of norovirus gastroenteritis. *Curr Opin Virol*. 2012;2(1):96-102.
29. Chan MC, Sung JJ, Lam RK, et al. Fecal viral load and norovirus-associated gastroenteritis. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(8):1278-1280.
30. Chen Y, Hall AJ, Kirk MD. Norovirus Disease in Older Adults Living in Long-Term Care Facilities: Strategies for Management. *Curr Geriatr Rep*. 2017;6(1):26-33.
31. Repp KK, Hostetler TP, Keene WE. A norovirus outbreak related to contaminated surfaces. *J Infect Dis*. 2013;208(2):295-298.
32. Jones TF, Yackley J. Foodborne Disease Outbreaks in the United States: A Historical Overview. *Foodborne Pathog Dis*. 2018;15(1):11-15.

33. Coutts SP, Sturge K, Lalor K, et al. An outbreak of foodborne norovirus gastroenteritis linked to a restaurant in Melbourne, Australia, 2014. *Western Pac Surveill Response J.* 2017;8(2):12-16.
34. Hall AJ, Lopman BA, Payne DC, et al. Norovirus disease in the United States. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(8):1198-1205.
35. Verhoef L, Vennema H, van Pelt W, et al. Use of norovirus genotype profiles to differentiate origins of foodborne outbreaks. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(4):617-624.
36. Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, et al. World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. *PLoS Med.* 2015;12(12):e1001923.
37. Belliot G, Lopman BA, Ambert-Balay K, Pothier P. The burden of norovirus gastroenteritis: an important foodborne and healthcare-related infection. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(8):724-730.
38. 厚生労働省. 食中毒統計資料. 2017;  
[http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html). Accessed July 8, 2017.
39. da Silva Polo T, Peiro JR, Mendes LC, et al. Human norovirus infection in Latin America. *J Clin Virol.* 2016;78:111-119.
40. 厚生労働省. 食中毒統計資料. 2018;  
[http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html). Accessed March 6, 2018.
41. Adler JL, Zickl R. Winter vomiting disease. *J Infect Dis.* 1969;119(6):668-673.
42. Matthews JE, Dickey BW, Miller RD, et al. The epidemiology of published norovirus outbreaks: a review of risk factors associated with attack rate and genogroup. *Epidemiol Infect.* 2012;140(7):1161-1172.
43. Sandmann FG, Shallcross L, Adams N, et al. Estimating the Hospital Burden of Norovirus-Associated Gastroenteritis in England and its Opportunity Costs for Non-Admitted Patients. *Clin Infect Dis.* 2018.
44. Lopman BA, Steele D, Kirkwood CD, Parashar UD. The Vast and Varied Global Burden of Norovirus: Prospects for Prevention and Control. *PLoS Med.* 2016;13(4):e1001999.
45. 国立感染症研究所. 浜松市内におけるノロウイルス集団食中毒事例. 2014;  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-sp/2297-related-articles/related-articles-413/4798-dj4131.html>. Accessed March 13, 2018.
46. Hall AJ, Eisenbart VG, Etingue AL, Gould LH, Lopman BA, Parashar UD. Epidemiology of foodborne norovirus outbreaks, United States, 2001-2008. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(10):1566-1573.
47. Jones EL, Kramer A, Gaither M, Gerba CP. Role of fomite contamination during an outbreak of norovirus on houseboats. *Int J Environ Health Res.* 2007;17(2):123-131.

48. Somura Y, Kimoto K, Oda M, et al. Detection of Norovirus in Swab Specimens of Restrooms and Kitchens Collected for Investigation of Suspected Food Poisoning Outbreaks in Tokyo. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 2017;58(4):201-204.
49. Marks PJ, Vipond IB, Carlisle D, Deakin D, Fey RE, Caul EO. Evidence for airborne transmission of Norwalk-like virus (NLV) in a hotel restaurant. *Epidemiol Infect*. 2000;124(3):481-487.
50. Teunis PF, Moe CL, Liu P, et al. Norwalk virus: how infectious is it? *J Med Virol*. 2008;80(8):1468-1476.
51. Graham DY, Jiang X, Tanaka T, Opekun AR, Madore HP, Estes MK. Norwalk virus infection of volunteers: new insights based on improved assays. *J Infect Dis*. 1994;170(1):34-43.
52. Atmar RL, Opekun AR, Gilger MA, et al. Norwalk virus shedding after experimental human infection. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(10):1553-1557.
53. Rockx B, De Wit M, Vennema H, et al. Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis*. 2002;35(3):246-253.
54. Lowther JA, Gustar NE, Powell AL, Hartnell RE, Lees DN. Two-year systematic study to assess norovirus contamination in oysters from commercial harvesting areas in the United Kingdom. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78(16):5812-5817.
55. Kim HY, Kwak IS, Hwang IG, Ko G. Optimization of methods for detecting norovirus on various fruit. *J Virol Methods*. 2008;153(2):104-110.
56. Lowther JA, Henshilwood K, Lees DN. Determination of norovirus contamination in oysters from two commercial harvesting areas over an extended period, using semiquantitative real-time reverse transcription PCR. *J Food Prot*. 2008;71(7):1427-1433.
57. Phillips G, Tam CC, Rodrigues LC, Lopman B. Prevalence and characteristics of asymptomatic norovirus infection in the community in England. *Epidemiol Infect*. 2010;138(10):1454-1458.
58. Phillips G, Tam CC, Rodrigues LC, Lopman B. Risk factors for symptomatic and asymptomatic norovirus infection in the community. *Epidemiol Infect*. 2011;139(11):1676-1686.
59. El-Senousy WM, Costafreda MI, Pinto RM, Bosch A. Method validation for norovirus detection in naturally contaminated irrigation water and fresh produce. *Int J Food Microbiol*. 2013;167(1):74-79.
60. Rumble C, Addiman S, Balasegaram S, et al. Role of Food Handlers in Norovirus Outbreaks in London and South East England, 2013 to 2015. *J Food Prot*. 2017;80(2):257-264.
61. Okabayashi T, Yokota S, Ohkoshi Y, et al. Occurrence of norovirus infections unrelated to norovirus outbreaks in an asymptomatic food handler population. *J Clin Microbiol*. 2008;46(6):1985-1988.
62. Shamkhali Chenar S, Deng Z. Environmental indicators of oyster norovirus outbreaks in coastal waters. *Mar Environ Res*. 2017;130:275-281.

63. Campos CJA, Kershaw S, Morgan OC, Lees DN. Risk factors for norovirus contamination of shellfish water catchments in England and Wales. *Int J Food Microbiol.* 2017;241:318-324.
64. Parada-Fabian JC, Juarez-Garcia P, Natividad-Bonifacio I, Vazquez-Salinas C, Quinones-Ramirez EI. Identification of Enteric Viruses in Foods from Mexico City. *Food Environ Virol.* 2016;8(3):215-220.
65. Wang Y, Zhang J, Shen Z. The impact of calicivirus mixed infection in an oyster-associated outbreak during a food festival. *J Clin Virol.* 2015;73:55-63.
66. Intamaso U, Ketkhunthod S. Evaluation of a sensitive reverse transcription PCR-enzymelinked immunosorbent assay for detection of hepatitis A virus in oysters (*Saccostrea glomerata*) on the east coast of the Gulf of Thailand. *J Food Prot.* 2014;77(5):859-863.
67. Lees D. Viruses and bivalve shellfish. *Int J Food Microbiol.* 2000;59(1-2):81-116.
68. Le Guyader F, Haugarreau L, Miossec L, Dubois E, Pommepuy M. Three-year study to assess human enteric viruses in shellfish. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(8):3241-3248.
69. Legeay O, Caudrelier Y, Cordevant C, Rigottier-Gois L, Lange M. Simplified procedure for detection of enteric pathogenic viruses in shellfish by RT-PCR. *J Virol Methods.* 2000;90(1):1-14.
70. Tian P, Engelbrektson AL, Jiang X, Zhong W, Mandrell RE. Norovirus recognizes histo-blood group antigens on gastrointestinal cells of clams, mussels, and oysters: a possible mechanism of bioaccumulation. *J Food Prot.* 2007;70(9):2140-2147.
71. Hutson AM, Atmar RL, Graham DY, Estes MK. Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type. *J Infect Dis.* 2002;185(9):1335-1337.
72. Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, et al. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med.* 2003;9(5):548-553.
73. Gao X, Esseili MA, Lu Z, Saif LJ, Wang Q. Recognition of Histo-Blood Group Antigen-Like Carbohydrates in Lettuce by Human GII.4 Norovirus. *Appl Environ Microbiol.* 2016;82(10):2966-2974.
74. de Wit MA, Koopmans MP, van Duynhoven YT. Risk factors for norovirus, Sapporo-like virus, and group A rotavirus gastroenteritis. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(12):1563-1570.
75. 東京都感染症情報センター. 感染性胃腸炎の流行状況. 2017; <http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/en/>. Accessed Feb 25, 2017.
76. World Health Organization. Diarrhoeal disease. 2013; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/>. Accessed Feb 25, 2017.
77. Patel MM, Hall AJ, Vinje J, Parashar UD. Noroviruses: a comprehensive review. *J Clin Virol.* 2009;44(1):1-8.
78. Childs JD, Piva SR, Fritz JM. Responsiveness of the numeric pain rating scale in patients with low back pain. *Spine (Phila Pa 1976).* 2005;30(11):1331-1334.
79. Koh H, Lee MJ, Kim MJ, Shin JI, Chung KS. Simple diagnostic approach to childhood fecal retention using the Leech score and Bristol stool form scale in medical practice. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010;25(2):334-338.

80. Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 2003;41(4):1548-1557.
81. Kojima S, Kageyama T, Fukushi S, et al. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J Virol Methods.* 2002;100(1-2):107-114.
82. A novel sensitive protocol for genotyping of norovirus genogroup II recombinants [press release]. 70th Annual Meeting of Tohoku Society of Microbiology 2016.
83. Alfano-Sobsey E, Sweat D, Hall A, et al. Norovirus outbreak associated with undercooked oysters and secondary household transmission. *Epidemiol Infect.* 2012;140(2):276-282.
84. Godoy P, Alseda M, Bartolome R, et al. Norovirus gastroenteritis outbreak transmitted by food and vomit in a high school. *Epidemiol Infect.* 2016;144(9):1951-1958.
85. Guo Z, Huang J, Shi G, Su CH, Niu JJ. A food-borne outbreak of gastroenteritis caused by norovirus GII in a university located in Xiamen City, China. *Int J Infect Dis.* 2014;28:101-106.
86. Smith AJ, McCarthy N, Saldana L, et al. A large foodborne outbreak of norovirus in diners at a restaurant in England between January and February 2009. *Epidemiol Infect.* 2012;140(9):1695-1701.
87. Blackwelder WC, Biswas K, Wu Y, et al. Statistical methods in the Global Enteric Multicenter Study (GEMS). *Clin Infect Dis.* 2012;55 Suppl 4:S246-253.
88. Bursac Z, Gauss CH, Williams DK, Hosmer DW. Purposeful selection of variables in logistic regression. *Source Code Biol Med.* 2008;3:17.
89. Mickey RM, Greenland S. The impact of confounder selection criteria on effect estimation. *Am J Epidemiol.* 1989;129(1):125-137.
90. Rouhani S, Penataro Yori P, Paredes Olortegui M, et al. Norovirus Infection and Acquired Immunity in 8 Countries: Results From the MAL-ED Study. *Clin Infect Dis.* 2016;62(10):1210-1217.
91. Assab R, Temime L. The role of hand hygiene in controlling norovirus spread in nursing homes. *BMC Infect Dis.* 2016;16:395.
92. Nguyen GT, Phan K, Teng I, Pu J, Watanabe T. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis in developing countries. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(40):e8139.
93. O'Brien SJ, Donaldson AL, Iturriza-Gomara M, Tam CC. Age-Specific Incidence Rates for Norovirus in the Community and Presenting to Primary Healthcare Facilities in the United Kingdom. *J Infect Dis.* 2016;213 Suppl 1:S15-18.
94. Wikswo ME, Kambhampati A, Shioda K, et al. Outbreaks of Acute Gastroenteritis Transmitted by Person-to-Person Contact, Environmental Contamination, and Unknown Modes of Transmission--United States, 2009-2013. *MMWR Surveill Summ.* 2015;64(12):1-16.
95. Simmons K, Gambhir M, Leon J, Lopman B. Duration of immunity to norovirus gastroenteritis. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(8):1260-1267.

96. Bresee JS, Marcus R, Venezia RA, et al. The etiology of severe acute gastroenteritis among adults visiting emergency departments in the United States. *J Infect Dis*. 2012;205(9):1374-1381.
97. Lopman B, Simmons K, Gambhir M, Vinje J, Parashar U. Epidemiologic implications of asymptomatic reinfection: a mathematical modeling study of norovirus. *Am J Epidemiol*. 2014;179(4):507-512.
98. Friedman ND, Pollard J, Stupart D, et al. Prevalence of *Clostridium difficile* colonization among healthcare workers. *BMC Infect Dis*. 2013;13:459.
99. Kaplan JE, Feldman R, Campbell DS, Lookabaugh C, Gary GW. The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis. *Am J Public Health*. 1982;72(12):1329-1332.
100. Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Sarangi J, Brown DW. Clinical manifestation of norovirus gastroenteritis in health care settings. *Clin Infect Dis*. 2004;39(3):318-324.
101. Karst SM. Pathogenesis of noroviruses, emerging RNA viruses. *Viruses*. 2010;2(3):748-781.
102. Ueda N. Gastroduodenal Perforation and Ulcer Associated With Rotavirus and Norovirus Infections in Japanese Children: A Case Report and Comprehensive Literature Review. *Open Forum Infect Dis*. 2016;3(1):ofw026.
103. 東京都感染症情報センター. 東京都における胃腸炎起因ウイルスの検出状況 (2015 年 9 月から 2016 年 3 月まで) . 2016; <http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/epid/y2016/tbkj3706/>. Accessed January 23, 2018.
104. Verhoef L, Hewitt J, Barclay L, et al. Norovirus genotype profiles associated with foodborne transmission, 1999-2012. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(4):592-599.
105. Saito M, Goel-Apaza S, Espetia S, et al. Multiple norovirus infections in a birth cohort in a Peruvian Periurban community. *Clin Infect Dis*. 2014;58(4):483-491.
106. Kazama S, Masago Y, Tohma K, et al. Temporal dynamics of norovirus determined through monitoring of municipal wastewater by pyrosequencing and virological surveillance of gastroenteritis cases. *Water Res*. 2016;92:244-253.
107. 厚生労働省. ノロウイルスに関する Q & A. 2018; [http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/kanren/yobou/040204-1.html](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/kanren/yobou/040204-1.html). Accessed March 6, 2018.
108. 下水道におけるウイルス対策に関する調査委員会. 報告書 2010; <http://www.mlit.go.jp/common/000116092.pdf>. Accessed March 6, 2018.
109. Noda M. Current Status of Norovirus Food Poisoning Related to Bivalve Mollusk and Its Control Measures. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 2017;58(1):12-25.
110. 吉水 守笠, 久会; 室越, 章. カキのノロウイルス浄化法に関する研究 : 培養可能なネコカリシウイルス(FCV)を代替えとして. *Oyster Research Institute News*, 16: 14-21 2005; <https://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/bitstream/2115/39501/4/yoshimizu-219.pdf>. Accessed Mar 17, 2018.

111. 西尾治, 秋山美穂, 愛木智香子, et al. ノロウイルスによる食中毒について. *食品衛生学雑誌* 2005;46(6):235-245.
112. Chen MY, Chen WC, Chen PC, Hsu SW, Lo YC. An outbreak of norovirus gastroenteritis associated with asymptomatic food handlers in Kinmen, Taiwan. *BMC Public Health*. 2016;16:372.
113. Franck KT, Lisby M, Fonager J, et al. Sources of Calicivirus contamination in foodborne outbreaks in Denmark, 2005-2011--the role of the asymptomatic food handler. *J Infect Dis*. 2015;211(4):563-570.

## 9 図 1. 質問票

整理番号: SLK-

ID:

日付: 20 年 月 日

年齢、性別: 歳 男 女

[ウイルス性急性腸炎における、関連食物の疫学調査]  
質問票

1. 医師記載箇所

血圧  /  mmHg

体温  .  °C

脈拍  bpm

2. 下痢に関して質問にお答え下さい。  
Please answer the following questions about diarrhea

2. 1 何時間前から下痢がありますか？  
When did your symptom start? 2.1 時間前から

2. 2 1日最大何回下痢をしますか？  
How many times do you have diarrhea in the worst day? 2.2 回

2. 3 便に血は混じりますか？ 2.3 1. はい   
Do you have bloody diarrhea? 2. いいえ  
3. わからない

2. 4 考えられる最大の痛みを10、痛みがない場合を0とした時、最も強い腹痛はいくつですか？  
Please give a scale from 0 "no pain" to 10 "worst pain" for your stomachache 2.4

2. 5 吐き気はありますか？ 2.5 1. はい   
Do you have nausea? 2. いいえ  
3. わからない

2. 6 嘔吐はありますか？ある場合は1日最大何回ですか？ 2.6 回  
Do you have vomiting?

2. 7 48時間以内に熱っぽく感じましたか？ 2.7 1. はい   
Do you feel a fever within 48 hours? 2. いいえ  
3. わからない

2. 8 48時間以内に体温を測りましたか？ 2.8 1. はい  .  °C  
Do you measure your body temperature within 48 hours? 2. いいえ

2. 9 2週間以内に、家族内で下痢症状がある人がいましたか？ 2.9 1. はい   
Did you meet someone who had diarrhea in your house within 2 weeks? 2. いいえ  
3. わからない

2. 10 2.9がはいの場合はいつあいましたか？ 2.10 時間前  
When did you meet the person if you answered yes in 2.9?



2. 11 2週間以内に、職場や学校等で下痢症状がある人がいましたか？ 2.11 1. はい ☐  
Did you meet someone who had diarrhea?  
at school or working place within 2 weeks? 2. いいえ  
3. わからない
2. 12 2.11がはいの場合はいつあいましたか？ 2.12 時間前  
When did you meet the person if you answered yes in 2.11?

3. 食事に関して質問にお答えください。

3. 1: 貝に関して

3. 1. 1 症状が始まる72時間以内に別紙の貝を食べましたか？ 3.1.1 1. はい ☐  
Did you eat the following clams within 72 hours? 2. いいえ  
3. わからない
3. 1. 2 何時間前に食べましたか？ 3.1.2 時間  
When did you eat?
3. 1. 3 何個食べましたか？ 3.1.3 個  
How many clams did you eat?
3. 1. 4 調理方法は？（複数あれば複数記載） 3.1.4 1. 生 ① ☐  
How were the clams cooked? 2. 焼きもの ② ☐  
3. フライ ③ ☐  
4. 煮物 ④ ☐  
5. 味噌汁  
6. 蒸し物
3. 1. 5 自宅調理ですか？それとも外食ですか？ 3.1.5 1. 自宅 ☐  
Did you cook by yourself? Or eat in the restaurant? 2. 外食
3. 1. 6 調理具合はどうでしたか？ 3.1.6 1. 生 ① ☐  
How were the clams doing? 2. 火の通りが不十分 ② ☐  
3. 火の通りが十分 ③ ☐  
④ ☐
3. 1. 7 同じものを食べた人はいますか？ 3.1.7 1. いて、同じ症状がある ☐  
Is there someone who ate the same clams with you? 2. いるが同じ症状はない  
3. いない

3. 2: 生野菜サラダに関して

3. 2. 1 症状が始まる72時間以内に生野菜サラダを食べましたか？ 3.2.1 1. はい ☐  
Did you eat raw salad within 72 hours? 2. いいえ  
3. わからない
3. 2. 2 何時間前に食べましたか？ 3.2.2 時間  
When did you eat?
3. 2. 3 サラダの中に、魚介類が入っていましたか？ 3.2.3 1. はい ☐  
Were there any seafood in the salad? 2. いいえ  
3. わからない

- はいの場合、名称 ①   
(複数あれば複数) ②   
③   
④

3. 2. 4 魚介類の調理方法は？  
How was the seafood cooked?

3.2.4  
(複数あれば複数)

1. 生  
2. 焼きもの  
3. フライ  
4. 蒸し物

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 2. 5 魚介類の調理具合はどうでしたか？  
How were the seafood doing?

3.2.5 1. 生  
(複数あれば複数) 2. 火の通りが不十分  
3. 火の通りが十分

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 2. 6 サラダの中に、肉類(ハムを含む)が入っていましたか？  
Were there any meat in the salad?

3.2.6 1. はい  
2. いいえ  
3. わからない

☐

はいの場合、名称 ①  
(複数あれば複数) ②  
③  
④

3. 2. 7 肉類の調理方法は？  
How was the meat cooked?

3.2.7  
(複数あれば複数)

1. 生  
2. 焼きもの  
3. フライ  
4. 蒸し物

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 2. 8 肉類の調理具合はどうでしたか？  
How were the meat doing?

3.2.8 1. 生  
(複数あれば複数) 2. 火の通りが不十分  
3. 火の通りが十分

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 2. 9 自宅調理ですか？それとも外食ですか？  
Did you cook by yourself? Or eat in the restaurant

3.2.9 1. 自宅  
2. 外食

☐

3. 2. 10 同じものを食べた人はいますか？  
Was there someone who ate the same salad with you 3.2.10

1. いて、同じ症状がある  
2. いるが同じ症状はない  
3. いない

☐

### 3. 3: サンドイッチに関して

3. 3. 1 症状が始まる72時間以内にサンドイッチを食べましたか？  
Did you eat raw sandwich within 72 hours?

3.3.1 1. はい  
2. いいえ  
3. わからない

☐

3. 3. 2 何時間前に食べましたか？  
When did you eat?

3.3.2

3. 3. 3 サンドイッチの中に、魚介類が入っていましたか？  
Were there any seafood in the sandwich?

3.3.3 1. はい  
2. いいえ  
3. わからない

☐

はいの場合、名称 ①  
(複数あれば複数) ②  
③  
④

3. 3. 4 魚介類の調理方法は？  
How was the seafood cooked?

3.3.4  
(複数あれば複数)

1. 生  
2. 焼きもの  
3. フライ  
4. 蒸し物

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 3. 5 魚介類の調理具合はどうでしたか？  
How were the seafood doing?

3.3.5 1. 生  
(複数あれば複数) 2. 火の通りが不十分  
3. 火の通りが十分

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 3. 6 サンドイッチの中に、肉類(ハムを含む)が入っていましたか？  
Were there any meat in the sandwich?

3.3.6 1. はい  
2. いいえ  
3. わからない

☐

はいの場合、名称  
(複数あれば複数)

①   
②   
③   
④

3. 3. 7 肉類の調理方法は？  
How was the meat cooked?

3.3.7  
(複数あれば複数)

1. 生  
2. 焼きもの  
3. フライ  
4. 蒸し物

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 3. 8 肉類の調理具合はどうでしたか？  
How were the meat doing?

3.3.8 1. 生  
(複数あれば複数) 2. 火の通りが不十分  
3. 火の通りが十分

① ☐  
② ☐  
③ ☐  
④ ☐

3. 3. 9 自宅調理ですか？それとも外食ですか？  
Did you cook by yourself? Or eat in the restaurant?

3.3.9 1. 自宅  
2. 外食

☐

3. 3. 10 同じものを食べた人はいますか？

Is there someone who ate the same sandwich with you?

3.3.10 1. いて、同じ症状がある  
2. いるが同じ症状はない  
3. いない

☐

3. 4: 果物に関して

3. 4. 1 症状が始まる72時間以内に果物を食べましたか？  
Did you eat raw fruits within 72 hours?

3.4.1 1. はい  
2. いいえ  
3. わからない

☐

3. 4. 2 何時間前に食べましたか？  
When did you eat?

3.4.2

3. 4. 3 皮をむいて食べましたか？  
Did you peel the fruits?

3.4.3 1. はい  
2. いいえ

☐

3. 4. 4 自宅で食べましたか？それとも外食ですか？  
Did you eat in your house? Or eat in the restaurant?

3.4.4 1. 自宅  
2. 外食

☐

3. 4. 5 同じものを食べた人はいますか？

Were there someone who ate the same fruits with you?

3.4.5 1. いて、同じ症状がある  
2. いるが同じ症状はない  
3. いない

☐

3. 5 弁当・惣菜に関して

3. 5. 1 症状が始まる72時間以内に弁当や惣菜を食べましたか？  
Did you eat lunch box or deli within 72 hours?

- 3.5.1 1. はい  
2. いいえ  
3. わからない

3. 5. 2 何時間前に食べましたか？  
When did you eat?

3.5.2

3. 5. 3 何時間前に作られたものですか？  
When was the box or deli made?

3.5.3

3. 5. 4 同じものを食べた人はいますか？

3.5.4

1. いて、同じ症状がある  
2. いるが同じ症状はない  
3. いない

3. 5 外食に関して

3. 5. 1 症状が始まる72時間以内に外食しましたか？  
Did you eat in the restaurant within 72 hours?

- 3.5.1 1. はい  
2. いいえ  
3. わからない

3. 5. 2 何時間前に食べましたか？  
When did you eat?

3.5.2

3. 5. 3 何をたべましたか？  
What did you eat?

3.5.3

- ①  
②  
③  
④

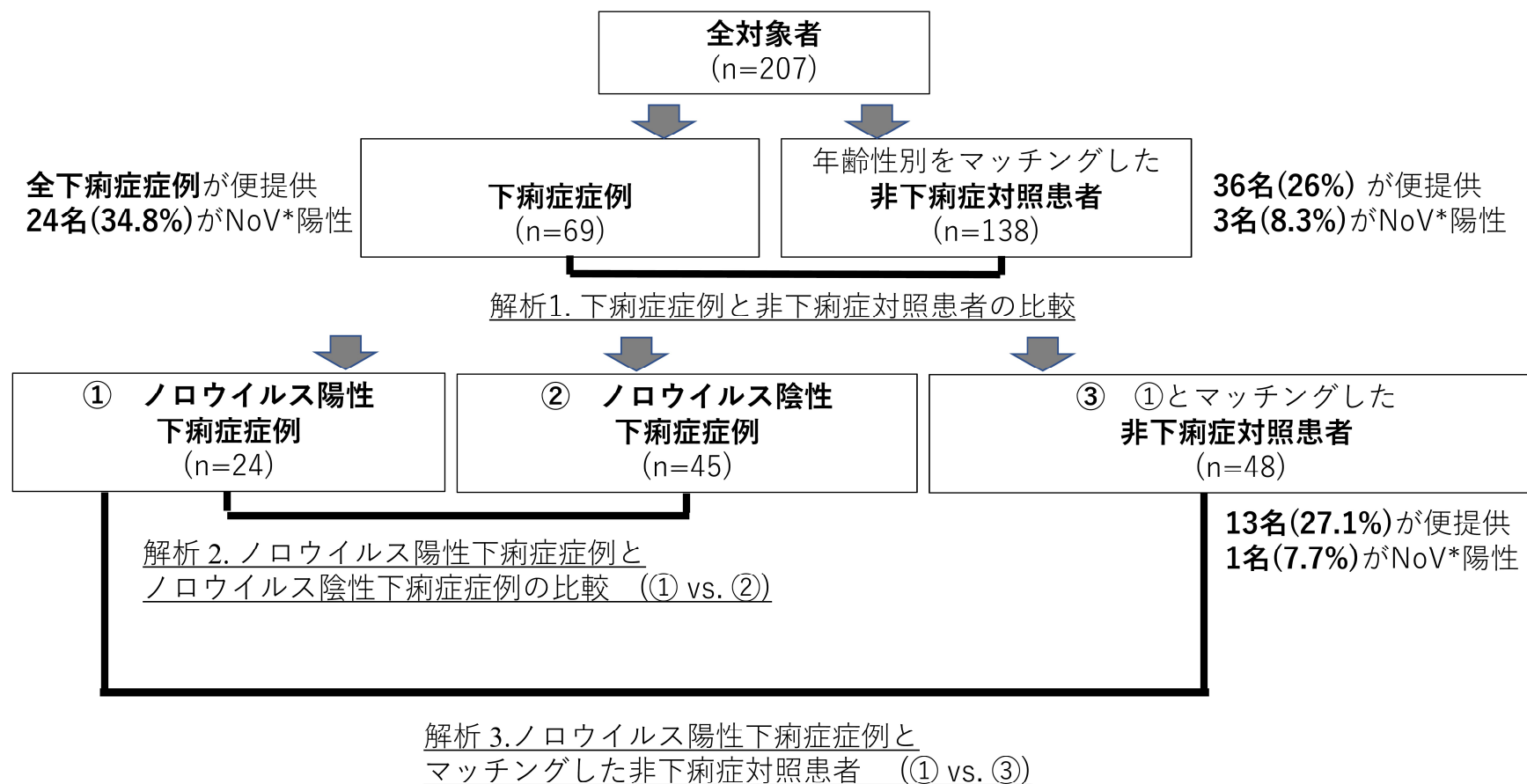
  
  
  


3. 5. 4 同じものを食べた人はいますか？

3.5.4

1. いて、同じ症状がある  
2. いるが同じ症状はない  
3. いない

図 2. 本研究の全体像



a. NoV: ノロウイルス

## 10 表

表 1. 喫食歴及びノロウイルス検査結果における、下痢症症例と非下痢症対照患者の比較

	下痢症症例 ( <i>n</i> = 69)	非下痢症対照患者 ( <i>n</i> = 138)	合計 ( <i>n</i> = 207)	オッズ比 (95%信頼区間)	<i>p</i> 値	寄与危険割合 (%)
患者背景 <sup>a</sup>						
男性, 数, (%)	24 (34.8)	48 (34.8)	72 (34.8)	0.97 (0.52—1.91)	1.00	—
年齢, 歳, 平均 (標準偏差)	38.3 (12.5)	38.6 (12.5)	38.5 (12.5)	—	0.86	—
年齢 (35 歳以上), 数, (%) <sup>b</sup>	36 (52.2)	73 (52.9)	109 (52.7)	0.97 (0.52—1.81)	0.92	—
72 時間以内の喫食歴						
二枚貝, 数, (%)						
生食	9 (13.0)	16 (11.6)	25 (12.1)	1.14 (0.42—2.94)	0.82	1.6
生食以外の調理法	13 (18.8)	22 (15.9)	35 (16.9)	1.22 (0.52—2.76)	0.60	3.4
すべての調理法	22 (31.9)	38 (27.5)	60 (29.0)	1.23 (0.62—2.41)	0.52	6.0
二枚貝以外の魚介類, 数, (%)	26 (37.7)	52 (37.7)	78 (37.7)	1.00 (0.52—1.88)	1.00	0.0
生野菜サラダ, 数, (%)	56 (81.2)	99 (71.7)	155 (74.9)	1.69 (0.80—3.76)	0.17	33.3
サンドイッチ, 数, (%)	12 (17.4)	32 (23.2)	44 (21.3)	0.70 (0.30—1.52)	0.37	— <sup>c</sup>
果物, 数, (%)	40 (58.0)	87 (63.0)	127 (61.4)	0.81 (0.43—1.52)	0.55	— <sup>c</sup>
持ち帰り食, 数, (%)	32 (46.4)	56 (40.6)	88 (42.5)	1.27 (0.68—2.36)	0.46	9.8
外食, 数, (%)	40 (58.0)	87 (63.0)	127 (61.4)	0.81 (0.43—1.53)	0.55	— <sup>c</sup>
ノロウイルス陽性, 数, (%)	24/69 (34.8)	3/36 (8.3)	27/105 (25.7)	5.87 (1.56—32.5)	<b>&lt; 0.01</b>	28.9

<sup>a</sup> 患者背景：年齢と性別はマッチングした。<sup>b</sup> 年齢は、全体の中央値により 2 群にカテゴリー化した。<sup>c</sup> 計算上、負の数となる寄与危険割合の記載は省略した。太字で示した *p* 値は、0.05 未満であり統計学的有意を示す。

表 2-1. 下痢症症例と非下痢症対照患者間の、摂取した二枚貝の種類の比較

	生食				生食以外の調理法				すべての調理法			
	下痢症症例 (n=69)		非下痢症 対照患者 (n=138)		下痢症症例 (n=69)		非下痢症 対照患者 (n=138)		下痢症症例 (n=69)		非下痢症 対照患者 (n=138)	
シジミ ( <i>Cyrenidae</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	2	(2.9)	5	(3.6)	2	(2.9)	5	(3.6)
タイラギ ( <i>Atrina pectinata</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(0.7)	0	(0.0)	1	(0.7)
ホタテ ( <i>Mizuhopecten yessoensis</i> )	1	(1.4)	6	(4.3)	3	(4.3)	7	(5.1)	4	(5.8)	13	(9.4)
牡蠣 ( <i>Pterioidea</i> )	5	(7.2)	4	(2.9)	5	(7.2)	3	(2.2)	10	(14.5)	7	(5.1)
ナミ貝 ( <i>Panopea japonica</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(0.7)	0	(0.0)	1	(0.7)
ムール貝 ( <i>Mytilidae</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	2	(2.9)	2	(1.4)	2	(2.9)	2	(1.4)
アカ貝 ( <i>Anadara broughtonii</i> )	3	(4.3)	6	(4.3)	0	(0.0)	0	(0.0)	3	(4.3)	6	(4.3)
ホッキ貝 ( <i>Pseudocardium sachalinense</i> )	1	(1.4)	1	(0.7)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(1.4)	1	(0.7)
アサリ ( <i>Ruditapes philippinarum</i> )	0	(0.0)	1	(0.7)	2	(2.9)	8	(5.8)	2	(2.9)	9	(6.5)
ハマグリ ( <i>Meretrix lusoria</i> )	0	(0.0)	1	(0.7)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(0.7)
ウチムラサキ ( <i>Saxidomus purpurata</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
その他二枚貝	1	(1.4)	4	(4.3)	1	(1.4)	0	(0.0)	2	(2.9)	4	(2.9)
少なくとも 1 種類以上の二枚貝摂取	9	(13.0)	16	(11.6)	13	(18.8)	22	(15.9)	22	(31.9)	38	(27.5)

患者は複数の二枚貝の種類を選択可能である。すべての調理法での喫食において、4 名の下痢症症例と、10 名の非下痢症対照患者が 2 種類以上の二枚貝を摂取したと答えた。

表 2-2. ノロウイルス陽性下痢症症例とノロウイルス陰性下痢症症例の、摂取した二枚貝の種類と比較

	生食				生食以外の調理法				すべての調理法			
	ノロウイルス陽性症例		ノロウイルス陰性症例		ノロウイルス陽性症例		ノロウイルス陰性症例		ノロウイルス陽性症例		ノロウイルス陰性症例	
	(n=24)		(n=45)		(n=24)		(n=45)		(n=24)		(n=45)	
シジミ ( <i>Cyrenidae</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	2	(4.4)	0	(0.0)	2	(4.4)
タイラギ ( <i>Atrina pectinata</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
ホタテ ( <i>Mizuhopecten yessoensis</i> )	1	(4.2)	0	(0.0)	2	(8.3)	1	(2.2)	3	(12.5)	1	(2.2)
牡蠣 ( <i>Pterioidea</i> )	5	(20.8)	0	(0.0)	2	(8.3)	3	(6.6)	7	(29.2)	3	(6.6)
ナミ貝 ( <i>Panopea japonica</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
ムール貝 ( <i>Mytilidae</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(4.2)	1	(2.2)	1	(4.2)	1	(2.2)
アカ貝 ( <i>Anadara broughtonii</i> )	1	(4.2)	2	(4.4)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(4.2)	2	(4.4)
ホッキ貝 ( <i>Pseudocardium sachalinense</i> )	0	(0.0)	1	(2.2)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(2.2)
アサリ ( <i>Ruditapes philippinarum</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(4.2)	1	(2.2)	1	(4.2)	1	(2.2)
ハマグリ ( <i>Meretrix lusoria</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
ウチムラサキ ( <i>Saxidomus purpurata</i> )	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)
その他二枚貝	0	(0.0)	1	(2.2)	0	(0.0)	1	(2.2)	0	(0.0)	2	(4.4)
少なくとも 1 種類以上の二枚貝摂取	6	(25.0)	3	(6.7)	4	(16.7)	9	(20.0)	10	(41.7)	12	(26.7)

患者は複数の二枚貝の種類を選択可能である。すべての調理法での喫食において、3 名のノロウイルス陽性下痢症症例と、1 名のノロウイルス陰性下痢症症例が 2 種類以上の二枚貝を摂取したと答えた。



表 3. ノロウイルス陽性下痢症症例とノロウイルス陰性下痢症症例間、及びノロウイルス陽性下痢症症例とマッチングした非下痢症対照患者間での、喫食歴の比較

	ノロウイルス陽性 下痢症症例 ( <i>n</i> = 24)	対. ノロウイルス陰性下痢症症例			対. マッチングした非下痢症対照患者			
		( <i>n</i> = 45)	合計 ( <i>n</i> = 69)	オッズ比 (95%信頼区間)	( <i>n</i> = 48)	合計 ( <i>n</i> = 72)	オッズ比 (95%信頼区間)	寄与危険 割合 (%)
男性, 数, (%)	10 (41.7)	14 (31.1)	24 (34.8)	1.58 (0.57—4.42)	20 (41.7)	30 (41.7)	1.00 (0.37—2.70)	
年齢, 歳, 平均 (標準偏差)	34.0 (8.9)	40.5 (13.4)	38.0 (12.0)	—	34.6 (10.0)	34.4 (9.6)	—	
年齢 (35 歳以上), 数, (%) <sup>a</sup>	10 (41.7)	26 (57.8)	36 (52.2)	0.52 (0.19—1.43)	20 (41.7)	30 (41.7)	1.00 (0.37—2.70)	
喫食歴, 数, (%)								
二枚貝								
生食	6 (25.0)	3 (6.7)	9 (13.0)	<b>4.67</b> <b>(1.05—20.7)</b>	3 (6.3)	9 (12.5)	<b>5.00</b> <b>(1.13—22.2)</b>	20.0
生食以外の調理法	4 (16.7)	9 (20.0)	13 (18.8)	0.80 (0.22—2.93)	9 (18.8)	13 (18.1)	0.87 (0.24—3.17)	— <sup>b</sup>
すべての調理法	10 (41.7)	12 (26.7)	22 (31.9)	1.96 (0.69—5.59)	12 (25.0)	22 (30.6)	2.14 (0.76—6.07)	22.2
二枚貝以外の魚介類	9 (37.5)	17 (37.8)	26 (37.7)	0.99 (0.36—2.75)	18 (37.5)	27 (37.5)	1.00 (0.36—2.75)	0.0
生野菜サラダ	20 (83.3)	36 (80.0)	56 (81.2)	1.25 (0.34—4.58)	33 (68.8)	53 (73.6)	2.27 (0.66—7.81)	46.7
サンドイッチ	3 (12.5)	9 (20.0)	12 (17.4)	0.57 (0.14—2.35)	8 (16.7)	11 (15.3)	0.71 (0.17—2.98)	— <sup>b</sup>
果物	12 (50.0)	28 (62.2)	40 (58.0)	0.61 (0.22—1.65)	27 (56.3)	39 (54.2)	0.78 (0.29—2.08)	— <sup>b</sup>
持ち帰り食	8 (33.3)	24 (53.3)	32 (46.4)	0.44 (0.16—1.28)	22 (45.8)	30 (41.7)	0.59 (0.21—1.64)	— <sup>b</sup>
外食	15 (62.5)	25 (55.6)	40 (58.0)	1.33 (0.48—3.68)	32 (66.7)	47 (65.3)	0.83 (0.30—2.31)	— <sup>b</sup>

<sup>a</sup> 年齢は、全体の中央値により 2 群にカテゴリー化した。<sup>b</sup> 計算上、負の数となる寄与危険割合の記載は省略した。太字で示した *p* 値は、0.05 未満であり統計学的有意を示す。

表 4. ノロウイルス陽性下痢症症例とノロウイルス陰性下痢症症例での、臨床所見及び下痢症接触歴の比較

	下痢症症例			p 値
	全体 (n = 69)	ノロウイルス陽性 (n = 24)	ノロウイルス陰性 (n = 45)	
男性, 数, (%)	24 (34.8)	10 (41.7)	14 (31.1)	0.43
年齢, 歳, 平均 (標準偏差)	38.3 (12.4)	34.0 (8.9)	40.5 (13.4)	<b>0.02</b>
下痢発症から来院までの時間, 時間, 平均 (標準偏差)	35.1 (36.0)	20.8 (19.3)	42.8 (40.4)	<b>&lt;0.01</b>
1 日の下痢の頻度, 平均 (標準偏差)	8.1 (5.2)	7.0 (5.4)	8.6 (5.0)	0.24
血便, 数, (%)	6 (8.7)	1 (4.2)	5 (11.1)	0.66
ニューメリカル レーティング スケール <sup>a</sup> , 平均 (標準偏差)	4.6 (2.7)	3.9 (2.6)	4.9 (2.7)	0.15
嘔気, 数, (%)	40 (58.0)	19 (79.2)	21 (46.7)	<b>0.01</b>
1 日の嘔吐の頻度, 平均 (標準偏差)	2.0 (3.4)	4.0 (4.7)	0.9 (1.7)	<b>&lt;0.01</b>
体熱感, 数, (%)	39 (56.5)	16 (66.7)	23 (51.1)	0.31
48 時間以内の発熱, °C, 平均 (標準偏差)	37.4 (1.0)	37.4 (0.7)	37.3 (1.2)	0.65
家族内下痢症接触歴 <sup>b</sup> 数, (%)	18 (26.1)	8 (33.3)	10 (22.2)	0.39
学校／職場内下痢症接触歴 <sup>b</sup> 数, (%)	7 (10.4)	0 (0.0)	7 (16.3)	<b>0.04</b>
収縮期血圧, mmHg, 平均 (標準偏差)	119.4 (17.4)	114.3 (14.9)	122.1 (18.2)	0.08
拡張期血圧, mmHg, 平均 (標準偏差)	72.8 (10.5)	69.9 (9.8)	74.3 (10.7)	0.10
体温, °C, 平均 (標準偏差)	36.8 (0.6)	37.1 (0.6)	36.7 (0.6)	<b>&lt;0.01</b>
脈拍, 回/分, 平均 (標準偏差)	91.1 (15.5)	99.2 (14.7)	86.8 (14.2)	<b>&lt;0.01</b>
ブリストルスケール, 平均 (標準偏差)	6.4 (0.7)	6.3 (0.8)	6.5 (0.7)	0.41

<sup>a</sup> ニューメリカル レーティング スケール：腹痛の重症度を表す。0 から 10 までで表され、点数が高い程腹痛が強い。<sup>b</sup> 下痢症接触歴は下痢症状が始まる 2 週間以内に、家庭内または学校／職場での下痢症状を有する患者との接触歴があるかどうかを指す。太字で示した p 値は、0.05 未満であり統計学的有意を示す。

表 5-1. ロジスティック回帰分析及び感度分析を用いた、ノロウイルス陰性下痢症と比べた際のノロウイルス陽性下痢症に対する、二枚貝生食歴による調整済みオッズ比 ( $n=69$ )

	ノロウイルス陽性下痢症に対するオッズ比 (95%信頼区間)				
	モデル 1	モデル 2	モデル 3	モデル 4	モデル 5
研究目的とした変数					
二枚貝の生食歴	<b>4.67</b> (1.05—20.7)	3.97 (0.86—18.3)	<b>6.03</b> (1.01—36.1)	3.26 (0.58—18.2)	6.62 (0.71—61.9)
患者背景					
年齢 (35 歳以上) <sup>a</sup>	—	0.58 (0.20—1.64)	0.55 (0.18—1.67)	0.85 (0.26—2.73)	0.77 (0.22—2.68)
男性	—	1.39 (0.47—4.14)	1.22 (0.38—3.89)	1.71 (0.50—5.84)	1.45 (0.39—5.31)
バイタルサイン					
体温 (36.7°C以上) <sup>a</sup>	—	—	1.80 (0.51—6.39)	—	1.38 (0.31—6.05)
脈拍 (91 回/分以上) <sup>a</sup>	—	—	3.70 (0.96—14.2)	—	4.40 (0.85—22.9)
症状					
下痢発症から来院までの時間 (24 時間以上) <sup>a</sup>	—	—	—	0.62 (0.19—2.00)	0.95 (0.26—3.55)
嘔吐	—	—	—	<b>6.98</b> (1.98—24.6)	<b>7.59</b> (2.01—28.7)

モデル 1：研究目的とした説明変数のみ投入。モデル 2：モデル 1 に患者背景を追加。モデル 3：モデル 2 に単変量解析にて  $p$  値 0.05 未満と有意になったバイタルサインを追加。モデル 4：モデル 3 に単変量解析にて  $p$  値 0.05 未満と有意になった症状を追加。モデル 5：すべての上記変数を投入。<sup>a</sup>連続変数は、全体の中央値により 2 群にカテゴリー化した。太字で示した  $p$  値は、0.05 未満であり統計学的有意を示す。

表 5-2. ロジスティック回帰分析及び感度分析を用いた、ノロウイルス陰性下痢症と比べた際のノロウイルス陽性下痢症に対する、二枚貝喫食歴による調整済みオッズ比 ( $n=69$ )

	ノロウイルス陽性下痢症に対するオッズ比 (95%信頼区間)				
	モデル 1	モデル 2	モデル 3	モデル 4	モデル 5
研究目的とした変数					
二枚貝の喫食歴	1.96 (0.69—5.59)	1.88 (0.65—5.48)	2.31 (0.73—7.33)	2.56 (0.73—9.04)	3.48 (0.89—13.6)
患者背景					
年齢 (35 歳以上) <sup>a</sup>	—	0.52 (0.19—1.44)	0.49 (0.17—1.46)	0.82 (0.26—2.66)	0.75 (0.21—2.62)
男性	—	1.55 (0.54—4.46)	1.39 (0.45—4.27)	1.79 (0.52—6.14)	1.67 (0.46—6.04)
バイタルサイン					
体温 (36.7°C以上) <sup>a</sup>	—	—	2.58 (0.77—8.71)	—	2.41 (0.46—6.04)
脈拍 (91 回/分以上) <sup>a</sup>	—	—	2.54 (0.77—8.34)	—	2.74 (0.68—11.2)
症状					
下痢発症から来院までの時間 (24 時間以上) <sup>a</sup>	—	—	—	0.55 (0.17—1.75)	0.66 (0.19—2.38)
嘔吐	—	—	—	<b>8.01</b> <b>(2.21—29.7)</b>	<b>8.85</b> <b>(2.25—34.8)</b>

モデル 1：研究目的とした変数のみ投入。モデル 2：モデル 1 に患者背景を追加。モデル 3：モデル 2 に単変量解析にて  $p$  値 0.05 未満と有意になったバイタルサインを追加。モデル 4：モデル 3 に単変量解析にて  $p$  値 0.05 未満と有意になった症状を追加。モデル 5：すべての上記変数を投入。<sup>a</sup> 連続変数は、全体の中央値により 2 群にカテゴリー化した。太字で示した  $p$  値は、0.05 未満であり統計学的有意を示す。

表 6. 2つの流行期に観察されたノロウイルスの遺伝子型

遺伝子グループ	遺伝子型		2015 年 9 月— 2016 年 3 月		2016 年 9 月—2017 年 3 月		Total	
	ORF <sup>a</sup> 1	ORF <sup>a</sup> 2	n	(%)	n	(%)	n	(%)
GII	GII.Pe	GII.4 Sydney_2012	4	(30.8)	0	(0.0)	4	(15.4)
	GII.P7	GII.6	0	(0.0)	1	(7.7)	1	(3.8)
	GII.P12	GII.3	3	(23.1)	2	(15.4)	5	(19.2)
	GII.P16	GII.2	1	(7.7)	8	(61.5)	9	(34.6)
	GII.P16	GII.13	1	(7.7)	0	(0.0)	1	(3.8)
	GII.P17	GII.17	4	(30.8)	2	(15.4)	6	(23.1)
	Total		13	(100.0)	13	(100.0)	26	(100.0)
GI	—	GI.4	1	(100.0)	0	—	1	(100.0)

a. ORF: open reading frame: オープンリーディングフレーム

## 補助資料

プライマー	ヌクレオチド (5' →3' )	参考文献
Real-time RT PCR 用		
G I		
COG1F	CGYTGGATGCGNTTYCATGA	80
COG1R	CTTAGACGCCATCATCATTYAC	80
G II		
COG2F	CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG	80
COG2R	TCGACGCCATCTTCATTCACA	80
シーケンス用		
G I		
G1SKF	CTGCCCCGAATTYGTAATGA	81
G1SKR	CCAACCCARCCATTRTACA	81
G II		
4766 <sup>a</sup>	CCDGCHGGNTGGTTYGGVAARYT	82
G2SKR	CCRCCNGCATRHCCRTRTACAT	81

a. プライマーセット 4766／G2SKR はポリメラーゼの遺伝子型 GII.P4, GII.P7, GII.P12, GII.P13, GII.P15, GII.P16, GII.P17, GII.P21, GII.P22, GII.Pe, GII.Pg で陽性。